Vol. IV Dicembre 1932 - A. XI Fasc. XII

SOCIETÀ INTERNAZIONALE DI MICROBIOLOGIA

BOLLETTINO

DELLA

SEZIONE ITALIANA

SOMMAIRE

SOCIETÀ INTERNAZIONALE DI MICROBIOLOGIA

SEZIONE ITALIANA

In base all'art. 8 dello Statuto Sociale si è proceduto alla rinnovazione del Consiglio Direttivo della Sezione, che resterà in carica per un triennio.

La votazione venne fatta per scheda segreta, mediante referendum fra i Soci in regola con le quote sociali.

La votazione diede i seguenti risultati: votanti n. 139.

Prof. S. Belfanti	voti 130
Prof. A. Azzi	» 108
Prof. G. De' Rossi	» 101
Prof. D. Carbone	» 99
Prof. D. De Blasi	» 98
Prof. V. Puntoni	» 24
Prof. G. Petragnani	» 15
Prof. G. Sanarelli	» 12
Prof. A. Zironi	» 9
Prof. D. Ottolenghi	» 7
Prof. O. Casagrandi e E. Veratti	» 6
Prof. B. Morpurgo e L. Petri	» 5
Prof. C. Arnaudi, L. Montemartini, P. Stazzi, G. Vernoni . .	» 4
Prof. E. Bertarelli	» 3
Prof. Dessy, Francioli, Menonna, R. Maggiora, Pepeu, Rondoni	» 2

Seguono con voti 1 i sigg. Prof. Peyronel, Tarozzi, Stropeni, Sangiorgi, Guerrini, Redaelli, Ascoli, Cominotti, Fugazza, Lussu Jona, Simonetti, Peglion, Lustig, Cuboni, Casotti, Levi, Neppi, Lattes, Herlitzka, Bruschettini, D'Antona, Messieri, Traverso, Allaria, Brotzu, Brusa, Zoia, Provera, Corpaci, Pergola, Alessandrini A., Pollacci, Trossarelli, Monti, Bonanno, Mori, Pauli.

In base al risultato delle elezioni il Consiglio Direttivo della Sezione Italiana della Società Internazionale di Microbiologia resta formato dei sigg. Prof. A. Azzi, S. Belfanti, D. Carbone, D. De Blasi, G. De' Rossi.

Milano, 15 febbraio 1933-XI.

I Segretari di Redazione
Prof. G. DESSY e C. ARNAUDI.

ALESSANDRO BRUSCHETTINI

Non ancora sessantaquattrenne, il 25 novembre dello scorso anno, cessava di vivere in Genova il Prof. A. Bruschettini, libero docente di Igiene e Direttore del Laboratorio di Terapia Sperimentale, da lui fondato nella città, Sua stabile dimora da più di cinque lustri. Con Lui viene a scomparire un microbiologo di cultura eccezionale, un uomo di laboratorio, che di questo e per questo aveva vissuto, superando traversie e soffrendo ansie, che pochi eletti hanno conosciuto.

Di Lui, laureato giovanissimo, si ricordano i lavori sulla rabbia e sul tetano, eseguiti sotto la direzione del compianto Prof. Tizzoni; della Sua permanenza in tale Istituto Egli portò con sè vivo e perenne ricordo ed il vigile stimolo alla ricerca sperimentale, ordinata e metodica. In periodo di grande epidemia influenzale, nel 1892, isolò dal sangue di ammalati un bacillo in tutto simile a quello trovato da Pfeiffer nell'espettorato. Innovatore e felice ricercatore fu Egli nel campo della vaccinoterapia, nella quale mosse i primi passi a fianco di un altro grande allievo di Tizzoni, di E. Centanni. Specialmente nel campo dell'immunizzazione antitubercolare, Egli sostenne sempre che la lotta si poteva condurre soltanto coll'uso di germi vivi, attenuati e loro prodotti di ricambio vitale, non alterati col calore. In varii Congressi Egli espose e sostenne le Sue idee, che non modificò mai; praticamente Egli le mise in atto nel Suo Laboratorio di Terapia Sperimentale, che riuscì a portare ad un'invidiabile altezza nella considerazione dei medici e scienziati italiani ed esteri.

Nel Suo Laboratorio, accanto ai lavori nel campo immunitario, favorì e diede sviluppo a svariate ricerche nel campo ematologico, sulle spirochetosi e sul carcinoma dei topini.

Come allievo della Scuola di Tizzoni, desiderò sempre che in ogni lavoro si tenesse conto del fatto che il microbiologo deve occuparsi anche di anatomia patologica e di istopatologia. Era un appassionato del bel preparato istologico e delle buone documentazioni microfotografiche.

Nelle cure della famiglia privata e di laboratorio aveva affinato il Suo animo sensibile, ma anche nei continui contatti col pubblico si rivelava profondamente buono e disinteressato.

Alla Famiglia Sua, in particolare ai due figli medici, giunga la espressione del nostro vivo cordoglio.

Rapallo. G. Grosso.

GIULIO CESARE ROVIDA

Recentemente a soli 36 anni si è spento nella Repubblica Argentina il Prof. GIULIO CESARE ROVIDA: egli si era colà recato come Direttore della Sezione di analisi dello Istituto Biologico Argentino. A tale posto direttivo lo aveva ottimamente preparato il lungo tempo trascorso prima come assistente poi come aiuto presso l'Istituto di Patologia Generale e Batteriologia della R. Università di Firenze.

Una grave ferita di guerra ha con ogni apparenza concorso a una fine così inattesa ed immatura.

Egli era redattore-capo della *Revista Sud-Americana de Endocrinologia, Immunologia y Quimioterapia.*

Le ricerche scientifiche nel campo della batteriologia e della immunologia, che valsero al Rovida la libera docenza, la varia e vasta collaborazione negli studi sui tossici di guerra ne fecero un amato ed apprezzato allievo del Sen. Prof. A. Lustig che anche lontano mai lo ha dimenticato.

Nè col Maestro lo potranno scordare amici e colleghi che ne apprezzarono, accanto alle attitudini tecniche particolarissime, le doti singolari del carattere e del cuore.

DE' ROSSI G. – **La fixation de l'azote élémentaire dans le sol. – III.e Activité végétative et pouvoir fixateur des Azotobacters.**

Certainement, le pouvoir fixateur des *Azotobacter* n'a pas besoin d'être demontré encore une fois. Par contre, il peut être intéressant d'établir, à l'aide des méthodes récemment proposées pour le dénombrement exact de ces microbes, les rapports existants entre leur activité végétative et leur fonction fixatrice. J'ai donc entrepris des expériences, concernant ces deux activités des Azotobacters, soit dans leurs cultures artificielles sur plaque de silice mannitée, soit dans la terre même où ils sont renfermés, mélangée avec de la mannite.

Expérience I. — J'ai préparé 32 boîtes de Petri au silico-gel par la méthode de Winogradsky; dans chacune d'elles j'ai versé 4 cmc. d'une solution nutritive appropriée (mélange à parties égales de liquide minéral de Winogradsky (1) et d'eau distillée 200, mannite 25, carbonate de chaux 10) que j'avais fait bouillir pendant 5 minutes. Après un séjour d'environ 10 heures à 35° la surface du gel apparaissait bien sèche; j'ai alors étalé, sur chaque plaque, 1 gramme d'un échantillon de terre végétale, rendu parfaitement homogène par 25 passages successifs à travers un petit tamis aux mailles d'un mm. On a desséché immédiatement six de ces plaques, en les gardant pendant deux heures sur la surface fortement chauffée (70°-80° C) d'une étuve; après cela on a dosé, en trois plaques, l'azote organique (méthode de Kjeldahl) et dans les autres trois l'azote total (méthode de Jodlbauer). Le matériel de deux autres boîtes a été totalement transporté dans deux flacons de 500 cmc., bouchès à l'émeri, contenant chacun 400 cmc. d'eau de source stérilisée; les flacons ont été agités longtemps afin de rendre complètement homogène la suspension des microbes, et ensuite on a entrepris le dénombrement des Azotobacters avec les plaques de gélose simple mannitée (2). Un second groupe de 8 boîtes a été porté à l'étuve à 28°, dans une chambre humide; au bout de six jours toutes les plaques présentaient un développement abondant de colonies caractéristiques des Azotobacters, désormais tout à fait confluentes et plus ou moins noircies. On a pratiqué alors dans six de ces plaques, les dosages de l'azote, et on a fait le dénombrement des Azotobacters dans les deux autres. Encore huit boîtes ont été disposées sur une plaque de verre et recouvertes par une cloche au large bord, luté avec de la paraffine et de la vaseline, afin de garantir une fermeture hermétique. Le sommet de la cloche etait muni d'un bouchon de caout-

(1) Cfr. ma Note I dans ce Bulletin, 1932.
(2) Cfr. ma Note I et II dans ce Bulletin, 1932.

chouc traversé par deux tubes de verre munis de robinets; l'un de ces tubes plongeait jusqu'au fond de la cloche, l'autre dépassait à peine le bouchon. On a pu ainsi activer à l'intérieur de la cloche même, pendant deux heures, un courant d'air libéré de toute trace de composés azotés, à l'aide du passage par acide sulfurique, chaux soudée et lait de chaux. On a gardé l'appareil pendant 6 jours à l'étuve à 28° C, en répétant deux fois chaque jour, et pendant deux heures, le passage de l'air purifié. Après cela, les plaques présentaient le même aspect que celles du groupe précédent; on a determiné leur contenu en azote et en Azotobacters. Avec un appareil tout à fait analogue, on a exposé la dernière série de huit plaques dans une atmosphère d'hydrogène; après 6 jours à 28°, dans ces plaques on n'a observé aucun développement microbien, mais on a également pratiqué les déterminations usuelles.

Voici le résultat de l'expérience; les chiffres entre parenthèses indiquent les resultats de chaque recherche, tandis que dans les trois colonnes du côté droit du tableau on a rapporté les valeurs moyennes relatives.

	Milligr. d'azote		Nombre des Azotobacters
	organ.	total	
1. Plaques témoins avec 1 gr. de terre:			
(Azote organique, mg. 2.0, 2.0, 2.0)	2,0		
(Azote total, mg. 2,1, 2.0, 2.1)		2.1	
(Azotobacters 1480, 1760)			1620
2. Aprés 6 jours à 28°, à l'air libre:			
(Azote organique, mg. 6.4, 5.6, 5.8)	5.9		
(Azote total, mg. 6.3, 6.2, 5.8)		6.1	
(Azotobacters 994.000.000, 944.300.000)			969.150.000
3. Après 6 jours a 28° en présence d'air purifié:			
(Azote organique, mg. 6.3, 6.2, 5.6)	6.0		
(Azote total, mg. 5.8, 6.1, 6.3)		6.1	
(Azotobacters 900.300.000, 1.088.200.000)			994.250.000
4. Après 6 jours â 28° en prés nce d'hydrogène:			
(Azote organique, mg. 2.0, 2.1, 2.0)	2.0		
(Azote total, mg. 2.2, 2.3, 2.1)		2.2	
(Azotobacters 880,0)			440

J'ai executé encore deux expériences de contrôle, utilisant d'autres qualités de terre, mais en négligeant les épreuves en présence d'air purifié ou d'hydrogène, qui apparaissaient superflues après les résultats de la première expérience.

Expérience II. — J'ai préparé 12 plaques de silice et je les ai ensemencées avec 1 gramme de terre de jardin. Dans la préparation et le traitement des cultures, dans les analyses, etc., on a suivi la technique indiquée pour les deux premières séries de l'expérience I.

	Milligr. d'azote		Nombre des Azotobacters
	organ.	total	
1. Plaques témoins avec 1 gr. de terre:			
(Azote organique, mg. 2.1, 2.3)	2.2		
(Azote total, mg. 3.1, 3.4)		3.2	
(Azotobacters 2540, 2100)			2320
2. Après 6 jours à 28°:			
(Azote organique, mg. 8.5, 8.8)	8.6		
(Azote total, mg. 10.1, 10.4)		10.2	
(Azotobacters 1.100.000.000, 1.334.000.000)			1.217.000.000

Expérience III. — Comme la précédente, mais employant une autre qualité de terre pour l'ensemencement des plaques. On a dosé seulement l'azote total.

	Milligr. d'azote	Nombre des Azotobacters
1. Plaques témoins avec 1 gr. de terre:		
(Azote total, mg. 1.8, 1.9, 1.9)	1.9	
(Azotobacters 880, 1300)		1090
2. Après 6 jours à 28:		
(Azote total, mg. 7.4, 8.0, 7.3)	7.6	
(Azotobacters 798.300.000, 911.700.000)		855.000.000

De ces trois expériences il résulte que dans les plaques de silice contenant gr. 0,5 de mannite, ensemencées avec 1 gr. de terre et gardées pendant 6 jours à 28°, le nombre des Azotobacters est passé d'une moyenne de 1670 jusqu'à une moyenne de 1.008.850.000, avec fixation moyenne de mg. 5,2 d'azote dans le dosage selon la méthode de Kjeldahl (azote organique), et de mg. 5,6 selon la méthode de Jodlbauer (azote total).

Expérience IV. — On a passé 20 fois par un tamis aux mailles d'un mm., une certaine quantité de terre végétale, afin de la rendre parfaitement homogène. A une partie de cette terre on a ajouté le 2% de mannite en poudre, puis on a mélangé soigneusement et on a passé encore 15-20 fois par le tamis. Dans une série de boîtes de Petri de 9 cm. de diamètre, on a porté 5 grammes de terre simple, et dans une deuxième série de boîtes 5 grammes de terre mannitée. On a tout de suite dosé l'azote (méthodes de Kjeldahl et de Jodlbauer) dans 6 échantillons de terre simple et dans 6 échantillons de terre mannitée; dans 4 échantillons on a dénombré les Azotobacters. Une moitié des autres échantillons de terre simple ou mannitée ont été mouillés avec 2,5 cmc. d'eau distillée,

l'autre moitié avec 2,5 cmc. de solution de sublimé corrosif au 2%. Ensuite on a placé une partie des capsules dans des chambres humides qu'on a portées à l'étuve à 32°; les autres ont été également portées à l'étuve, mais sous une cloche de verre parcourue — comme dans l'expérience I — par un courant d'air purifié, qui, à sa sortie de la cloche, barbotait dans une solution N/10 d'acide sulfurique, dont le titre n'etait pas modifié à la fin de l'expérience. Au bout de 12 jours, on a pratiqué le dénombrement des Azotobacters dans 2 échantillons pour chacune des 6 séries des échantillons de terre; et dans les autres échantillons on a dosé l'azote à l'aide des méthodes de Kjeldahl et de Jodlbauer. Les résultats ont été les suivants:

	Milligr. d'azote dans 5 gr. de terre		Nombre des Azotobacters dans 5 gr. de terre
	organ.	total	
1. Terre témoin:			
(Azote organique, mg. 5.9, 6.0, 6.1)	6.0		
(Azote total, mg. 6.1, 6.1, 6.3)		6.2	
(Azotobacters 4300, 3700)			4000
2. Terre avec 2% de mannite:			
(Azote organique, mg. 6.1, 6.1, 6.1)	6.1		
(Azote total, mg. 6.2, 6.1, 6.3)		6.2	
(Azotobacters 4050, 3750)			3900
3. Terre simple mouillée; après 12 jours à 32°:			
(Azote organique, mg. 5.9, 6.0, 5.8, 6.1)	6.0		
(Azote total, mg. 6.1, 6.1, 6.4, 6.3)		6.2	
(Azotobacters 39.250, 41.000)			40.125
4. Terre simple mouillée avec solution de sublimé à 2%; après 12 jours à 32°:			
(Azote organique, mg. 5.8, 6.0, 5.8, 6.2)	6.0		
(Azote total, mg. 6.4, 6.1, 5.8, 6.2)		6.1	
(Azotobacters 0,0)			0
5. Terre avec 2% de mannite, mouillée; après 12 jours à 32°:			
(Azote organique, mg. 6.4, 6.4, 6.6, 6.5)	6.5		
(Azote total, mg. 6.6, 6.7, 6.7, 6.5)		6.6	
(Azotobacters 348.500.000, 399.300.000)			373.900.000
6. Terre avec 2% de mannite, mouillée avec solution à 2% de sublimé; après 12 jours à 32°:			
(Azote organique, mg. 5.8, 5.8, 6.1, 6.1)	6.0		
(Azote total, mg. 5.8, 5.8, 6.3, 6.0)		6.0	
(Azotobacters 0.0)			0
7. Terre avec 2% de mannite, mouillée; après 12 jours à 32° en présence d'air purifié:			
(Azote organique, mg. 6.4, 6.4, 6.4, 6.4)	6.4		
(Azote total, mg. 6.4, 6.6, 6.9, 6.9)		6.7	
(Azotobacters 385.500.000, 418.350.000)			401.925.000
8. Terre avec 2% de mannite, mouillée avec solution a 2% de sublimé; après 12 jours à 32° en présence d'air purifié:			
(Azote organique, mg. 6.1, 6.1, 6.1, 6.2)	6.1		
(Azote total, mg. 6.2. 6.2, 6.4, 6.3)		6.3	
(Azotobacters 0,0)			0

Pour cette expérience aussi, j'ai pratiqué quelques épreuves de contrôle, et même dans ce cas j'ai abandonné les essais pour lesquels l'expérience IV avait reussi déjà suffisamment probative.

Expérience V. — On repète les séries 1, 3, 5 de l'expérience précedente, mais employant une autre qualité de terre. Les échantillons ont été gardés pendant 10 jours à 32°.

	Milligr. d'azote dans 5 gr. de terre		Nombre des Azotobacters dans 5 gr. de terre
	organ.	total	
1. Terre témoin:			
(Azote organique, mg. 5.7, 5.8, 5.8)	5.8		
(Azote total, mg. 5.8, 5.9, 5.9)		5.9	
(Azotobacters 11900, 13.100)			12.500
2. Terre mouillée, après 10 jours à 32°:			
(Azote organique, mg. 5.8, 5.8, 6.0)	5.9		
(Azote total, mg. 6.0, 5.9, 5.9)		5.9	
(Azotobacters 33.000, 41.200)			37.100
3. Terre avec 2% de mannite, mouillée; après 10 jours à 32°:			
(Azote organique, mg. 5.9, 6.4, 6.4)	6.2		
(Azote total, mg. 6.1, 6.4, 6.6)		6.4	
(Azotobacters 198.400.000, 208.800.000)			203.600.000

Expérience VI. — On repète, suivant la même technique mais employant une autre qualité de terre, les séries 1 et 5 de l'expérience IV. Les échantillons ont été gardés pendant 10 jours à 34°. On a dosé seulement l'azote total.

	Milligr. d'azote total dans 5 gr. de terre	Nombre des Azotobacters dans 5 gr. de terre
1. Terre témoin:		
(Azote total, mg. 10.2, 10.6, 9.9)	10.2	
(Azotobacters 4800, 5100)		4950
2. Terre avec 2% de mannite, mouillée; après 10 jours à 34°:		
(Azote total, mg. 11.2, 11.3, 11.0)	11.2	
(Azotobacters 798.000.000, 746.500.000)		772.250.000

Des expériences IV, V, VI, il ressort que 5 grammes de terre contenant mg. 5,9 d'azote organique dosé par la méthode de Kjeldahl (moyenne de deux qualités de terre) et mg. 7,4 d'azote total dosé par la méthode de Jodlbauer (moyenne de trois qualités de terre), ainsi que 7150 Azotobacters (moyenne de trois qualités de terre), par suite de l'adjonction du 2% de mannite et du 50% d'eau, et par exposition à 32°-34° pendant

10-12 jours, ont gagné en moyenne 0,45 mg. d'azote organique et 0,66 mg. d'azote total, tandis que le contenu moyen en Azotobacters atteignait les 437.918.000. Par contre, dans la terre mise dans les mêmes conditions de température et d'humidité, mais sans adjonction de mannite, les Azotobacters arrivaient seulement à 38,600 (moyenne de deux expériences) et l'on ne constatait aucun gain en azote.

Conclusion.

1) Dans les plaques de silice avec 0,5 gr. de mannite, ensemencées avec 1 gr. de terre, on a observé, au bout de 6 jours à 28°, un développement d'environ un milliard d'Azotobacters, qui ont fixé 5, 6 mg. d'azote.

2) Dans 5 grammes de terre mélangée avec 2% de mannite et opportunément mouillée, le contenu moyen d'Azotobacters est passé, après 10-12 jours à 32°-34°, de 7150 à 438.000.000; ces microbes ont fixé, en moyenne, 0,66 mg. d'azote.

3) Dans les plaques de silice, aussi bien que dans les terres mannitées, on n'a constaté aucune différence entre les échantillons exposés à l'air de l'étuve et les échantillons gardés en courant d'air purifié de tout composé azoté, pour ce qui concerne le développement des Azotobacters et la fixation de l'azote. Les gains constatés sont donc totalement dûs à l'assimilation de l'azote élémentaire.

4) Dans la terre mouillée, mais sans adjonction de mannite, le nombre des Azotobacters a montré, après 10-12 jours à 32°-34°, une augmentation insignifiante, et on n'a observé aucun gain appréciable en azote.

Laboratoire de Microbiologie Agraire et Technique du R. Institut Supérieur d'Agraire, de Perugia.

GIUSEPPE GIUFFRIDA – **Quelques milieux pour l'isolement du bacille Typhique dans les fèces.**

La recherche du B. typhique dans les fécès constitue un problème de grande importance, et on peut facilement comprendre l'avantage que obtiendrait la prophylaxie à l'égard de cette infection, si l'on réussissait à mettre en évidence sa présence au moins dans la plupart des cas, dans les fécès des typhiques, surtout dans ceux des porteurs.

Malheureusement cette recherche se heurte à de sérieuses difficultés d'ordre pratique et technique, et on peut donc bien comprendre, comment dans ces derniers temps surtout, de nombreux auteurs aient cherché de nouvelles méthodes, aptes à faciliter la recherche du B. d'Eberth dans les selles.

Presque toutes les méthodes proposées se basent sur l'emploi de milieux culturaux électifs, d'enrichissement et capables en même temps, par l'addition de substances particulières, normalement colorantes, de faire plus ou moins complètement obstacle au développement des germes concomitants et du *B. coli* surtout, sans nuire à celui du B. typhique.

Le vert de malachite, le vert brillant, le vert d'éthyle etc. sont les substances le plus ordinairement employées jusqu'à aujourd'hui.

Il est bien de rappeler que pour l'isolement des fécès du B. typhique, on a proposé d'autres méthodes qui peuvent être distinguées des précédentes, parce qu'elles sont basées sur le principe particulier, de l'emploi de sérum agglutinant spécifique qui est ajouté directement au milieu de culture. Ces méthodes, qui peuvent être considérées comme des applications de l'essai bien connu d'agglutination à l'état naissant, suggèré par Bandi, pour le diagnostic rapide du choléra dans les fécès, ne sont pas très employées.

Aujourd'hui, les méthodes le plus ordinairement utilisées pour la recherche qui nous intéresse, et qui me semblent mériter davantage notre considération, sont celles proposées par Drîgalski-Conradi, Krumwiede, Pulcher, Wilson et Blair qui emploient des milieux de culture particuliers.

Je me suis proposé d'expérimenter comparativement ces milieux, afin d'établir des comparaisons et de déterminer, lequel parmi ceux-ci répondait le mieux à ce but.

A ce propos, je crois opportun de dire un mot ici de la préparation de ces milieux de culture, laissant de côté la description du milieu Drigalski-Conradi, qu'on emploie couramment.

Milieu de Krumwiede. — On prépare une gélose nutritive (extrait de viande 0,3%, peptone 1%, sel marin 0,5%, gélose 1,5%) et après y avoir ajouté de la soude caustique normale, on neutralise par l'indicateur d'Andrate (pH 6,9). Cet indicateur est composé de la manière suivante: 100 cc. d'une solution à 0,5% de fuchsine acide décolorée par addition de 16 cc. d'une solution N.° 1 de NaOH. A chaque 100 cc. de gélose préparée, on ajoute 1 cc. d'indicateur Andrate, 5 cc. d'une solution stérile à 20% de lactose et 5 cmc. de solution à 2% de glucose. Ensuite, on détermine la quantité de solution à 0,1% de vert brillant qu'il faut ajouter pour obtenir une concentration capable d'inhiber la culture du *B. coli* sans influencer le développement normal du B. typhique. A 4 lots du milieu, de 100 cc. chacun, on ajoute 0,2 0,3-0,4-0,5 etc. de la solution de vert brillant et on prépare des plaques qui sont ensemencées avec des cultures pures de B. typhique et de *B. coli*, et si possible, aussi avec des fèces fraîches contenant le bacille typhique.

La concentration du vert brillant à employer, est celle qui répond le mieux au but indiqué ci dessus.

Sur ce milieu, les colonies du B. typhique sont petites, lisses, aux marges quelque peu irrégulières, et leur surface présente de trés petites granulations: elles sont incolores.

Milieu de Pulcher. — A une partie en poids de viande maigre de boeuf hachée en petits morceaux, on ajoute deux parties en poids d'eau.

Ce mélange est réchauffé pendant une heure dans la marmite de Koch et filtré sur papier-filtre. A cette macération, on ajoute: 3% de gélose, 0,1% de glycérophosphate de calcium (soluble Merck) et 0,1% de caséine (commerc. Merck); on cuit de tout dans la marmite de Koch jusqu'à ce que la gélose soit complètement dissoute (3/4-1 heure). Ensuite, pour chaque 100 cmc. du milieu, on ajoute 2 cmc. d'une solution récente à 0,5% de Wasserblau (Grübler).

Ce milieu maintenu au chaud au bain-marie est additionné de soude caustique n. 2 jusqu'à ce que la couleur bleue se décolore partiellement, en passant ensuite à une tonalité gris-bleu (3,2 cmc. de NaOH n. 2, pour 100 cmc. de milieu).

La décoloration ne survient pas tout de suite, mais après avoir réchauffé le milieu pendant quelques minutes. A ce point, pour chaque 100 cmc. du milieu, on ajoute a 2 cmc. d'une solution, de préparation récente de vert d'éthile à 0,1% (Grübler) et 1 gr. de lactose. Le milieu après avoir été bien mélangé est réparti en matras et en grands tubes puis rechauffé dans la marmite de Koch pendant 10 minutes. Pendant cette stérilisation finale, on a la formation d'un abondant précipité. Avant la préparation des plaques le milieu, liquéfié et bien chaud, doit être remélangé, afin que le sédiment soit uniformement distribué dans toutes les couches du milieu solidifié en plaques.

Dans ces plaques, le milieu est d'un vert éclatant tirant sur le bleuâtre. Il est peu transparent: vis-à-vis des autres, il présente les avantages d'une préparation simple et rapide, d'une bonne resistance aux moisissures dont on n'a jamais remarqué la présence, pas même sur les plaques préparées depuis plusieurs jours.

Les colonies du B. typhique s'y développent en présentant un centre légèrement en relief et des bords plates et finement découpés: elles sont incolores et, au bout de 48 heures, prennent l'aspect typique de la feuille de la vigne.

Milieu de Wilson et Blair. — A 100 gr. de gélose à 3% liquéfiée dans un bain-marie bouillant, on ajoute:

1) Solut. à 20% de glucose: 5 cmc.

2) Solut. à 43% de Na_2SO_3 cristalisé: 10 cmc.

3) Liqueur de bismute, préparée avec de très bon citrate (Roberts p. ex.): 5 cmc.

On fait bouillir au bain-marie pendant 2^m-3^m et on ajoute ensuite.

4) Solut. à 25% de phosphate de sodium cristalisé: 10 cmc.
5) Solut. à 8% de sel Mohr: 1 cmc.
6) Solut. à 1% de vert brillant: 0,5 cmc.

On répartit tout cela dans des boîtes de Pétri, sur l'épaisseur d'au moins 3 mm.; on laisse sécher pendant 5^m en couvrant les plaques avec du papier buvard sans danger de contamination. Pour la préparation de ce milieu, je me suis conformé aux règles indiquées par Mazzetti et Buonomini. Les colonies typiques du B. typhique se présentent plates, ou légèrement ombiliquées, sèches, d'une couleur noire à reflets métalliques et avec un halo brun caractéristique.

Technique des recherches. — Dans un premier temps, j'ai fait mes expériences avec des fécès normales, artificiellement contaminées de bacilles typhiques.

D'une culture de B. typhique sur gélose inclinée (24-36 heures d'étuve) avec une anse de platine normale de 2 mm. de diamètre je prenais une petite quantité d'enduit cultural que je délayais dans une éprouvette contenant une quantité mesurée de solution physiologique stérile: 10 cc. par exemple.

De cette suspension, que j'appellerai mère, j'exécutais successivement des dilutions convenables, à un taux connu.

Tenant compte qu'une anse normale d'enduit cultural de B. typhique contient 1 miliard de germes environ, je déduisais le nombre de germes du B. typhique contenus dans chaque diluition, et le nombre des germes contenus dans chaque cc. de chaque dilution.

Et je continuais de la façon suivante: à chaque dilution connue de germes typhiques, j'additionnais une égale quantité en poids de fécès, que je pesais sur une balance, et que j'émulsionnais soigneusement (par exemple, à 5 cc. de suspension de bacilles typhiques à taux connu, j'ajoutais 5 gr. de fécès).

Après cela, j'exécutais l'ensemensement du matériel en laissant tomber d'une pipette tarée une goutte égale, de différentes suspensions fèces typhiques sur des plaques de chaque milieu que j'étais en train d'expérimenter.

Ayant déposé la goutte des suspensions, fèces-typhiques au centre de chaque plaque, avec l'anse de platine et en partant chaque fois du centre j'étalais en rayons la goutte sur toute la surface de la plaque.

Ensuite j'examinais les plaques après 24-36 heures de séjour à l'étuve; j'exécutais généralement pour chaque exprérience, quatre dilutions de la suspension typho-fécès (et, pour cela donc, 4 plaques pour chaque milieu de culture en examen) contenant successivement 10.000-1000-100-10 germes de B. typhique pour chaque gr. de fécès.

En agissant de la sorte, j'arrivais à connaître assez précisément le nombre des germes typhiques contenus dans chaque gr. de fèces, et [illegible] je pus établir [illegible] parmi les milieux [illegible] une plus grande [illegible]. [illegible]

[illegible]

[illegible] dans le tableau suivant :

Nombre de B. typhiques contenus dans 1 gr. de fèces	Milieu de [illegible]	Milieu de Krumwiede	Milieu de Wilson et Blair	Milieu de [illegible]
[illegible]	présente	présente	présente	présente
1.000	—	—	—	—
100	absente	[illegible]	—	[illegible]
10	absente	absente	absente	—

[illegible] que décrite.

J'indique les résultats obtenus dans le tableau suivant.

Fèces des typhiques en cours de maladie.

[illegible]	Milieu de Drigalski		Milieu de Krumwiede		Milieu de Wilson et Blair		Milieu de [illegible]	
Nombre	Pos.	Nég.	Pos.	Nég.	Pos.	Nég.	Pos.	Nég.
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

Fèces de personnes examinées à divers moments (pas plus de trois mois) après leur guérison clinique.

Échantillons examinés	Milieu de Drigalski		Milieu de Krumwiede		Milieu de Wilson et Blair		Milieu de Pulcher	
Nombre	Pos.	Nég.	Pos.	Nég.	Pos.	Nég.	Pos.	Nég.
20	0	20	0	20	0	20	1	19

Comme conclusion aux expériences exécutées pour la recherche du B. typhique dans les selles de malades pendant le cours de l'infection j'ai obtenu 40 % de résultats positifs avec le milieu de Pulcher; 30 % avec les milieux de Krumwiede, de Wilson et Blair; 20 % avec le milieu de Drigalski-Conradi.

Dans la recherche du B. typhique chez des malades guéris de fièvre typhoïde, sur 20 personnes j'ai obtenu un seul cas positif avec le milieu de Pulcher, chez une personne guérie depuis 50 jours environ.

Le bas pourcentage de résultats positifs obtenus dans la recherche du B. typhique chez des anciens malades de fièvre typhoïde, est d'ailleurs fort compréhensible même avec le milieu de Pulcher, puisqu'on sait combien est irrégulière l'élimination de l'agent morbide chez les convalescents et chez les porteurs de B. typhique.

De mes recherches, il résulte cependant que parmi les milieux examinés pour la recherche du B. typhique dans les fécès, le milieu de Pulcher est celui qui, actuellement, m'a donné les meilleurs résultats. Je crois donc qu'il doit être préféré pour cette recherche.

RÉSUMÉ. — L'Au. après avoir brièvement indiqué l'importance de la recherche du B. typhique dans les fécès, a expérimenté par comparaison, les milieux proposés par Drigalski-Conradi, Krumwiede, Wilson et Blair, et par Pulcher, pour l'isolement du germe en question.

L'Au. a exécuté ses expériences, d'abord avec des fécès contaminés artificiellement avec le B. typhique, ensuite sur des fécès de malades de fièvre typhoïde en cours de maladie, et enfin avec des fécès de personnes convalescentes, depuis moins de trois mois de fièvre typhoïde.

Le milieu proposé par Pulcher a donné les résultats les meilleurs.

Laboratoire médico-micrographique provinciale de Novara.

BIBLIOGRAPHIE.

Buonomini, Giornale di Batteriologia e Immunologia, vol. IV, n. 11, 1929.
D'Antona L., Giornale di Batteriologia e Immunologia, anno IV, n. 4, 1929.
Krumwiede, « Zinsser H. Textb. of Bacter. » VI Ed., pag. 1231.
Mozzetti G., R. Accademia dei Fisoicritici di Siena, comunicazione del 25-5-1928.
Pulcher F., Centralbl. f. Bacter. Orig., 1930, vol. 116, pag. 522.
Virdis F., L'Igiène Moderna, 1931, pag. 177.
Wilson et *Blair*, Journal of Hjgiene, vol. XXVI, 1927, pag. 374.

CAPPELLINI et BERZI – **Un foyer de spirochétose ictèro-hémorragique à Florence.**

Les AA., frappés par la présence de cas d'ictère infectieux grave dont plusieurs aboutissaient à la mort et dont le cadre clinique se présentait avec la symptomatologie de la maladie de Weill, ont pratiqué la recherche du leptospire de Ido et Inada dans les urines d'individus soignés à l'Hôpital de « S. Maria Nuova », pendant l'été et l'automne derniers.

Dans les deux cas la recherche a été positive: le dépôt de l'urine de l'un d'eux fut inoculé à un cobaye qui mourut en présentant un syndrome ictéro-hémorragique typique, soit du côté clinique, soit du point de vue anatomo-pathologique. Sur des frottis, préparés avec le suc du foie et du rein, et colorés par la méthode de Giemsa, on mit en évidence la « *Leptospira icterohaemorragiae* »: l'inoculation d'une bouillie de différents organes à d'autres cobayes reproduisit de nouveau le cadre clinique de la spirochétose ictéro-hémorragique.

Les recherches sur le sang (Réaction de Wassermann, agglutinations, hémocultures) furent négatives.

On n'inocula point le sang aux cobayes, car on ne put observer les malades que plusieurs jours après que l'infection avait éclaté.

En faisant des recherches sur les commémoratifs des deux malades on arriva avec facilité à expliquer la façon par laquelle la contagion s'était produite: l'un d'eux, avant de tomber malade, avait travaillé pendant plusieurs jours dans un égout, et l'autre s'était baigné plusieurs fois dans un torrent qui passe près de la ville: la présence de rats est certaine dans ces deux endroits.

Il est connu que ces animaux sont considérés comme les réservoirs du virus, qui est répandu dans l'eau et dans le sol, d'où il arrive à l'homme, par les urines.

Pour d'autres cas, que les AA. observèrent, ils purent établir par des renseignements que l'infection s'était produite à la suite de bains dans l'Arno: quelques malades faisaient le métier de fouilleurs de sable.

Les AA. attirent l'attention sur cette maladie qui semble se répandre, si l'on considère la publication de cas semblables dans plusieurs localités d'Italie.

Laboratoire de Recherches Cliniques de l'Hôpital de « S. Maria Nuova » - Florence.

MAZZETTI G. e CHIARETTI D. – **Nouvelles recherches sur la dissociation du bacille du charbon.**

Charbon. — Au cours de recherches sur l'influence des repiquages secondaires sur les cultures du B. de Koch en bouillon glycériné, relatées il y a quelque temps par Petragnani dans une communication faite avec un de nous (1), on ensemença, à plusieurs reprises, des tubes de Petragnani avec des cultures mixtes de B. K. + le germe associé.

Dans un de ces tubes, ensemencés avec du B. K. + du Bac. du charbon et maintenu à 37°, on observa, peu de jours après, une petite colonie blanchâtre, luisante, de forme globulaire, et qui, petit à petit, en raison de la forte humidité du terrain (on y avait ensemencé 0,5 cc. de matériel), devint une couche épaisse qui occupait à peu près les 2/3 de la surface du milieu.

Les préparations, type Ziehl-Neelsen, démontrèrent qu'elle était formée de bactéridies typiques du charbon, bien sporulées et qui étaient devenues, en partie, acido- et alcool-résistantes.

Etant donné l'âge de la culture originaire (un mois à peu près) et le fait que le matériel avait été préalablement homogénéisé avec de la NaOH à 4%, stérile, on pouvait présumer que la culture de la bactèridie charbonneuse n'était due qu'à la forme sporulée, au développement de laquelle se prêtaient les conditions du terrain.

Ce fait était assez singulier, si l'on pense que la bactéridie charbonneuse ne se développe normalement pas sur le milieu de Petragnani à cause du pouvoir inhibiteur du vert de malachite. Comme le premier développement s'était produit sous forme d'une seule colonie, la culture pouvait être considérée comme unicellulaire.

Lombardo Pellegrino (1904) (2) avait déjà observé que lorsque la bac. du charbon est cultivée sur des terrains contenant des graisses, elle acquiert l'acido- et l'alcool-résistance.

Au fur et à mesure qu'elle se développait, la couche de culture char-

---

(1) *Petragnani G.* et *Mazzetti G.*, « Cultures secondaires dans les cultures en bouillon du B. de Koch, et leur influence sur le B. de Koch ». Communication au IVème Congrès de la Sect. Ital. de la Soc. Intern. de Microbiologie. Milan, octobre 1932.
(2) *Lombardo Pellegrino*, Annali d'Igiene, 14, 1904.

bonneuse s'étendait vers la partie supérieure, en formant une file de colonies typiques, ridées, plates et dépolies.

Le premier isolemment sur plaque de gélose permit le développement de 45 colonies, dont 21 légèrement sphériques, opaques, blanchâtres, dépolies et 24 grises, plates, diaphanes, élargies, et aussi dépolies. Cette dissociation du type des colonies donna ainsi lieu à deux souches distinctes:

Souche N.º 21 – Colonies normales;
» » 24 – » plus diaphanes et plus élargies.

Depuis le commencement, les préparations microscopiques demontrèrent que non seulement ces deux souches n'avaient plus aucun element acido- ni alcool-résistant, mais aussi que la première (N.º 21) etait formée de bacilles d'aspect normal, bien sporulés, tandis que dans la seconde (N.º 24) ils paraissaient plus fins, plus allongés, et déporvus de spores.

La première de ces souches ne modifia jamais le type de ses colonies et la seconde, au contraire, se dissocia plus tard en d'autres types qui seront décrits par la suite. Cette souche fut soumise à 11 expériences de contrôle, pour vérifier la présence de spores, pendant 2 mois (émulsions de gélose, cultures à t. a., chauffées à 65º pendant 15'). Ces essais démontrèrent constamment l'absence de spores.

A propos des différents caractères culturaux, nous rappellerons que le développement dans le bouillon était typique des cultures du charbon pour les deux souches. Dans la gélatine, par piqûre, la fluidification se produisit régulièrement: la souche N.º 24 ne produisit, toutefois, pas des ramifications aussi abondantes que celle N.º 21. Les essais de fermentation des sucres et la culture dans le lait furent identiques et réguliers.

Nous avons aussi voulu nous rendre compte si cette colonie speciale de la bactéridie du charbon, développée dans le tube de milieu Petragnani, et les deux souches qui s'en étaient dissociées, avaient une facilite plus prononcée de se développer sur ce terrain: mais, contrairement à ce que l'on prévoyait, sur le milieu Petragnani, il ne se manifesta aucun développement. Les trois souches furent alors transplantées sur Hohn («substratum» qui ressemble beaucoup au premier mais ne contient pas de vert de malachite), et sur ce terrain elles produisirent une couche très abondante, luisante, blanchâtre, formée par des éléments typiques dont certains étaient acido- et alcool-résistants.

Ces résultats vraiment curieux démontrent que dans la première culture du germe, sur milieu de Petragnani, se sont produites des conditions favorables particulières: mais en aucune façon le germe ne s'est adapté au vert de malachite.

Souches dans l'ordre généalogique	Caractères culturaux et microscopiques: Bouillon Ph 7.2	Gélose Ph 7.2	Gélatine Ph 7.2	Spores	Glucose	Lactose	Saccharose	Galactose	Mannite	Lait au tournesol	Virulence
Souche n° 88 de la Collection	Développement typique en flocons	Colonies typiques du charbon.	Culture typique Fluidification reg.	+	ac. après 24 h.	—	ac. après 24 h.	ac. après 24 h.	g. ac après 48 h.	ac. et coag. reg.	Virulente pour les petits rats, les cobayes et les lapins même à doses très réduites.
Souche n° 21	id.	id.	id.	+	id.	—	id.	id.	—	id.	Virulente pur le cobaye (Le tue en 6 jours, à la dose de 0.2 cc. par v. soucut). Non virulente pour le lapin 15 cc. par voie soucut.
Souche n° 24 non dissociée	id.	Colonies larges, plates, diaphanes, à surface rugueuse. « Caput medusae » et éléments bac. typiques.	Peu de ramifications latérales. Fluidification reg.	—	id.	—	id.	id.	—	id.	Est sans virulence pour les petits rats, les cobayes et les lapins.
Souche n° 24 R	id.	id.	Culture typique. Fluidification reg.	—	id.	—	ac. après 48 h.	ac. après 48 h.	—	id.	id.
Souche n° 24 RS	id.	Colonies ayant au max. 3 mm. opaques, à bords plutôt réguliers, relevées, a surface leg. opaque. « Caput medusae » à volutes étroites. Éléments courts, grampositifs.	id.	—	id.	—	ac. après 24 h.	id.	—	id.	id.
Souche n° 24 S	Trouble homogène	Colonies de 2 mm. opaques à bords ondulées et surface lisse. Indice très léger de « Caput medusae ».	id.	—	id.	—	id.	ac. après 72 h.	—	id.	id.
Souche n° 24 P	Développement typique en flocons	Colonies ayant des formes irrégulières, tenues, plâtes, étalées, diaphanes. « Caput medusae » typique.	id.	—	id.	—	ac. après 48 h.	ac. après 48 h.	—	id.	id.

Pour rendre ces recherches plus complètes on éprouva la virulence des souches 21 et 24. La première se montra virulente pour les cobayes (qui succombairent en 6 jours après avoir été inoculées par voie sous-cutanée avec des doses de 0,2 cc. de culture en bouillon de 24 heures), mais non pour le lapin (5 cc.); la seconde était sans virulence pour le lapin (5 cc.); pour les cobayes (2 cc.) et pour les petits rats (0,5 cc.).

La souche N.º 21 était également atténuée par rapport à la souche originale de la collection (N.º 88), qui, en général, tuait les cobayes en 48 heures, même inoculées à doses très réduites.

Ce fait démontre que la dissociation avait donné lieu à une différenciation des caractères morphologiques et culturaux des colonies et, qu'en outre, elle intéressait aussi, d'une façon très nette, le degré de virulence.

Les souches 21 et 24 furent conservées à t. a. et repiquées régulièrement environ toux les dix jours.

Dans une culture sur gélose incliné de la souche 24, quelques jours après l'avoir ensemencée, on remarqua qu'il s'était produit des colonies secondaires, plus opaques et en relief par rapport à la couche ancienne.

Ayant pratiqué un isolement sélectif sur gélose d'une de ces colonies, on remarqua que la souche N.º 24 s'était dissociée en 4 types de colonies que l'on pouvait identifier avec celles que Nungester (1) décrivit pour la première fois pour la bactéridie du charbon, et que l'on distingua par les lettres *R* (colonies rugueuses, typiques de la souche 24), *RS*(intermédiaires), *S* (lisses) et *f* (fantômes).

Ces 4 types de colonies furent purifiés en pratiquant des isolements sélectifs en série sur plaques de gélose à 2%. Les types *R*, *RS* et *S* ne modifièrent en aucune façon, au cours de toutes les expériences (trois mois à peu près), les caractères de leurs colonies, tandis que le type *P* se montra très instable.

Sur ces 4 souches, on fit des expériences comparatives de fermentation des sucres, de culture sur lait, du degré de virulence. La description des résultats de ces essais avec les caractères culturaux et microscopiques qui furent observés, sont résumés dans le schéma ci-joint, où l'on a aussi reporté les caractères des souches 21 et 24 et de la souche originale de la collection.

Observations. — D'après ce schéma on remarque que bien qu'il existe des différences entre les types dissociés de la souche 24 pour ce qui regarde les colonies et les caractères morphologiques des éléments bacillaires, les caractères biochimiques se sont conservés à peu près les mêmes. En effet, il n'y eut que le type *P* qui fermenta avec retard le saccharose et le galactose, et le type *S* le galactose.

---

(1) *Nungester*, Journ. of Infec. Disease, 44, 1929.

Toutes les souches qui provenaient de la colonie de charbon sur milieu de Petragnani n'ont pas fermenté la mannite, par opposition avec la souche originale qui avait une certaine action sur cette substance.

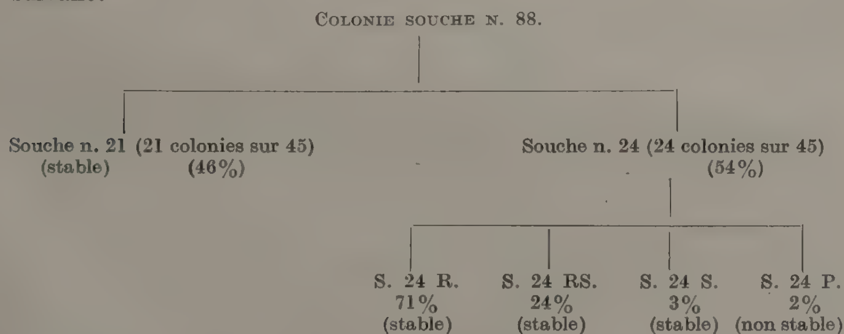
Pour le type *P* on tint compte des caractères des colonies observées lors du premier isolement, car, par la suite, cette souche subit des variations continues du type de ses colonies, si bien que l'on pouvait mettre en doute son identification avec le type décrit par Soule (1) pour le *Bac. subtilis* et par Nungester (loc. cit.) pour la bactéridie du charbon, comme l'une de ses variantes plus stables.

Des colonies semblables ont déjà été décrites par l'un de nous (2) pour des cultures dans le lait, pour le bac. du charbon et ont été appelées pseudo-*P*.

Au cours des expériences dont il est ici question, ces colonies changèrent continuellement leurs caractères spéciaux, bien que le matériel pour les isolements sélectifs fut toujours prélevé des plus typiques. On observa ainsi, par exemple, des colonies dont le centre était diaphane, rugueuses et dont le bourrelet périphérique était en relief, opaque, plutôt lisse.

En faisant un isolement de ces colonies, on en obtenait quelques unes du type *P* et d'autres dont le centre était opaque et le bord périphérique rugueux et d'autres encore plus petites, diaphanes à centre relevé, blanchâtres, formées par des éléments bacillaires ramassés, entortillés, semblables à des formes d'involution, en partie gram-négatives. Ces dernières n'étaient généralement pas repiquables ni en bouillon ni sur gélose. On isola 5 souches de colonies *P* toutes très instables et ayant tendance à revenir à la forme *R*, surtout si elles étaient repiquées sur gélose inclinée.

Le cadre du phénomène de la dissociation est représenté par le schéma suivant:



(1) *Soule*, Journ. of Inf. Dis., 42, 1928.

(2) *Mazzetti*, « Contributo alla conoscenza dei fenomeni dissociativi del *Bac. Anthracis* ». Comm. a la R.ª Accad. dei Fisiocritici in Siena, 26 juin 1932. Boll. Ist. Sierot. Milanese.

CONCLUSIONS. — Les observations qui ont été exposées se prêtent à d'intéressantes considérations.

C'est la seconde fois qu'on réussit à isoler, de la souche de collection N.º 88 (Castelfiorentino), un type asporogène. Mais le premier (qui fut obtenu en 1928 en cultivant la bactéridie du charbon en bouillon de Loeffler contenant 0,5°/₀₀ de bichromate de potassium), tout de suite après l'isolement était doué d'un certain degré de virulence, tandis que ce dernier type s'est montré totalement dépourvu de propriétés pathogènes.

La souche en question, à la difference d'une autre variante (N.º 21) sporogène et virulente pour les cobayes, isolée de la même colonie de bac. du charbon née sur milieu de Petragnani, s'est manifestée dans une phase instable, car, en dehors de toute intervention artificielle, par simple culture, elle s'est encore dissociée en 4 autres types pareillement asporogènes et avirulents.

En parcourant la bibliographie de ces derniers temps concernant de la dissociation de la bactéridie du charbon et les études plus anciennes qui peuvent être rapprochèes de ce problème (voir, à ce propos, la communication de l'un de nous (loc. cit.) sur cette question) on trouve difficilement qu'un cadre plus marqué de différenciation des propriétés pathogénétiques, se trouve lié à la dissociation du type des colonies.

Un autre fait intéressant a été observé au cours de ces expériences; la bactéridie du charbon, qui s'était précédemment développée sur le milieu de Petragnani, n'a pas pu s'adapter ensuite à ce nouveau « substratum » nutritif et, par conséquent, n'a pu être repiquée dans des tubes du même milieu.

Il semble donc que le développement de la première colonie ait été favorisé par des conditions exceptionnelles, dont on ignore si elles sont dues à la souche ou bien au milieu, et qui n'ont plus pu être réalisées dans les passages successifs.

Le milieu de Petragnani ne constitue point un « substratum » favorable pour le bac. du charbon: le fait est démontré par la dissociation des deux souches dont il a été question et par cette constatation que le premier développement ne s'est produit que 16 jours après l'ensemencement.

Pour le moment, nous ne pouvons affirmer si le cadre, plutôt complexe, des dissociations que nous avons observées est dû au vert de malachite qui était contenu dans le milieu où se produisit la première colonie charbonneuse, ou bien du fait que le germe ait subi l'influence défavorable de la culture associée au B. K.

Une explication, à ce propos, pourra sortir des recherches, qui continuent encore aujourd'hui. Elles sont faites directement sur des cultures du bac. du charbon + B. K., par d'autres AA. de cet Institut; les résultats seront publiés à part.

Université Royale de Sienne. Institut d'Hygiène et de Bactériologie.

GIUSEPPE MAZZETTI – Culture alternée en bouillon acide (Ph = 5,5) et alcalin (Ph = 8.3). Son importance comme excitant de la dissociation microbienne.

Il est connu qu'un des moyens pour réaliser des conditions défavorables au développement régulier « in vitro » des microrganismes, est celui d'altérer la réaction du milieu: les germes, en effet, exigent un « optimum » de concentration des ions hydrogène, qui, pour certaines espèces, a une importance primordiale sur les caractères et sur l'abondance du développement.

Récemment, plusieurs Auteurs se sont servi de ce fait pour exciter les phénomènes de dissociation dans les cultures microbiennes.

Petragnani, dans sa relation sur « La dissociation microbienne », lue au IVème Congrès de la Section Italienne de la Soc. Int. de Microbiologie, qui a eu lieu a Milan au mois d'Octobre dernier, a résumé en partie les résultats les plus importants qui ont été obtenus sur cette question: pour la bibliographie, je renvoie le lecteur à cette relation et à la monographie de Hadley (1) qui est encore plus détaillée.

En partant du fait, bien connu, que les organismes en général, sont très sensibles aux variations brusques, souvent répètées de température, j'ai voulu me rendre compte si les microrganismes manifestent cette même sensibilité vis à vis des variations de la réaction des milieux de culture.

On pouvait, en effet, admettre, qu'en réalisant ainsi des conditions défavorables pour l'activité biologique normale des germes, il était possible d'exciter le phénomène de la dissociation, beaucoup mieux qu'en cultivant le germe dans le même liquide nutritif à réaction constante et défavorable à la vie de ce germe.

Dans ce but, j'ai préparé une certaine quantité de bouillon de *Löffler* que j'ai divisée en trois parties, ayant chacune un pH différent; 5,5 (acide) pour la première, 7,2 (faiblement alcalin) pour la seconde, 8,3 (fortement alcalin) pour la troisième. Pour ces expériences, je me suis servi de deux souches de bac. typhique (Typhus Pergola, typhus 14) et de deux souches de bac. du charbon (souches n. 83 et 88).

J'ai été poussé à me servir de ces souches microbiennes par le fait que, dans notre Laboratoire, on avait essayé d'en obtenir la dissociation avec d'autres moyens; le résultat de ces recherches pouvait donc constituer un terme de comparaison très utile pour mes expériences.

Chaque souche fut cultivée dans les milieux qui ont été décrits, de la façon suivante:

(1) Journal of Inf. Dis., 40, n. 1, 1927.

1) Repiquages quotidiens alternés dans du bouillon de Löffler à pH = 5.5 et à pH = 8.3. Le germe était cultivé pendant 24 heures, par exemple, dans du bouillon à pH = 5.5, puis on revenait au bouillon à pH = 8.3 pour être à nouveau repiqué, le jour suivant, dans le bouillon à pH = 5.5, et ainsi de suite (Cultures à pH alterné).

2) Repiquages quotidiens dans du bouillon de Loeffler à pH = 5.5; 7.2 et 8.3 (tubes de contrôle).

3) Cultures dans du bouillon de Löffler à pH = 5.5; 7.2 et 8.3 laissées vieillir dans une étuve à 37° pendant tout le temps des expériences.

4) Culture dans le bouillon de Löffler à pH = 5.5; 7.2 et 8.3 repiquées tous les 10 jours.

D'après plusieurs Auteurs, la quantité de liquide nutritif, de 30 à 300 cc., excite d'une façon particulière la dissociation: pour éviter ce phénomène le milieu de culture fut distribué, dans des tubes ordinaires pour bactériologie, par quantités de 6-7 cc. par tube.

L'expérience N.° 3 permettait de me rendre compte s'il se manifestait une différence entre les cultures repiquées chaque jour (essai N.° 1) et celles laissées à elles-mêmes à 37°.

Etant donné que dans les expériences décrites au N.° 3, on pouvait admettre que l'évaporation progressive du milieu (maintenu à 37° dans des tubes ouverts) donna lieu à une concentration des sels, des protéines etc....., ce qui aurait pu exercer une influence quelconque, je fis les essais N.° 4 en repiquant tous les 10 jours les tubes maintenus à 37°.

Les repiquages furent faits environ 60 fois, et je n'ai pas cru utile de prolonger plus longtemps ces expériences, étant donné que les résultats des trois derniers isolements étaient presque identiques.

On pratiquait généralement les isolements tous les 10 jours: pour chaque souche, et pour chaque tube, on faisait un isolement sur plaques de gélose à 2% ayant le même pH que le tube correspondant, une préparation simple et un Gram.

Les modification du type de développement en bouillon peuvent être résumées de la façon suivante:

1) Le bac. typhique, dans tous les tubes où l'on fit chaque jour des repiquages, y compris celui à pH constant — excepté dans les tubes ayant un pH = 5.5 — commença à former, vers le 25ème passage, une pellicule très mince à la surface, pellicule qui devenait plus évidente 48 heures après. Tout le bouillon se présentait trouble, d'une façon uniforme, comme dans les tubes qui s'étaient développés normalement.

2) Le bac. du charbon, à partir du 7ème ou 8ème repiquage quotidien modifia profondément son type de développement, en devenant

légèrement trouble et homogène. Cette modification fut plus rapide dans le tube à pH = 5.5 où le développement, par rapport aux deux autres, resta toujours moindre.

Dans la série à pH alterné, il n'y eut point de modifications plus prononcées: mais le germe, qui se développait bien avec un pH = 8.3, n'était que très peu développé à pH = 5.5, si bien que souvent on avait l'impression qu'après 24 heures le repiquage était négatif. Mais il suffisait de porter une anse du liquide dans le tube à pH = 8.3 pour qu'il s'y manifestât un développement abondant.

Après 48 heures, à 37°, le tube à pH = 5.5, devenait aussi légèrement trouble.

Dans les préparations faites périodiquement avec les différents tubes, il ne se manifesta aucune modification de la forme et des affinités colorantes du bac. typhique et on ne remarqua qu'un raccourcissement général des chaines du bac. du charbon. Dans les préparations faites avec les cultures repiquées chaque jour, on n'observa jamais la présence de spores.

Les modifications du type du développement donnaient déjà une idée de la manière différente de se comporter du bac. typhique et du bac. du charbon. Les isolements périodiques ont confirmé cette supposition. Je me bornerai ici à résumer les résultats des isolements.

1) Le bac. typhique fournit toujours des colonies typiques. Même en prélevant le matériel de la couche superficielle très mince, on ne put mettre en évidence aucun processus de dissociation. Les repiquages quotidiens dans les milieux à pH très différents donnérent les mêmes résultats que ceux effectuées dans les milieux à pH constant. De la même façon se sont comportés les tubes laissés à eux-mêmes à 37° et ceux dont on effectuait les repiquages tous les 10 jours. Le liquide des premiers, 60 jours après, était réduit au ⅓ du volume primitif, et deux (pH = 5.5 et 7.2) étaient stériles.

2) Le bac. du charbon, dans les premiers isolement des différents essais, ne présenta aucune modification remarquable. Ce résultat ne se modifia pas, au cours des expériences suivantes, dans les isolements des tubes que l'on abandonnait à eux-mêmes.

Les essais d'isolement en partant de ces tubes me donnèrent toujours des colonies normales, et je pense que le fait est dû à la présence de spores qui, comme j'ai pu le demontrer par des expériences précédentes (1), réussissent à fixer et à transmettre les caractères des formes végétatives originales.

---

(1) Comm. à l'Acad. Royale des Fisiocritici in Siena, 24, VI, 1932, Boll. Ist. Sierot. Mil.

Au contraire, les isolements effectués d'après les tubes de bouillon, repiqués chaque jour à pH constant et à pH alterné, manifestèrent une variation progressive dans la forme des colonies pendant tout le premier mois des repiquages quotidiens: au cours des isolements du mois suivant (trois isolements sélectifs) le cadre ne subit aucune nouvelle variation.

Je ne puis pas affirmer que comme précocité, le phénomène de la dissociation ait manifesté des différences d'une expérience à l'autre: mais il faut remarquer que dans le bouillon à pH = 7.2 on eut une dissociation peu accentuée car on n'arriva qu'à un seul type de colonie intermédiaire entre R et S (R S). Dans les tubes à pH = 5.5 et 8.3 la dissociation fut plus prononcée et il se forma des colonies lisses (S), surtout dans les tubes contenants le bouillon à pH = 5.5.

Dans les tubes à pH alterné, le phénomène de la dissociation fut encore plus évident que dans ceux à pH constant: ce phénomène se manifesta surtout lorsque l'isolement fut effectué en partant du tube à pH acide.

La dissociation a donné, au fond, le même tableau, pour les deux souches du bac. du charbon, mais elle a été plus prononcée, pour la souche N.º 88.

Pour démontrer ce que je viens d'exposer, je résumerai les résultats du dernier isolement (après deux mois d'essai).

	R	RS	S
Charbon Nº 83 pH = 5.5	—	12	12
» » 83 pH = 7.2	1	184	—
» » 83 pH = 8.3	28	92	—
» » 83 pH = 5.5 (de la série alternée)	17	12	5
» » 83 pH = 8.3 (Idem)	19	70	—
» » 88 pH = 5.5	4	2	5
» » 88 pH = 7.2	24	205	—
» » 88 pH = 8.3	10	87	15
» » 88 pH = 5.5 (de la série alternée)	—	2	18
» » 88 pH = 8.3 (Idem)	44	125	11

En comparant les résultats obtenus avec le bac. typhique avec ceux obtenus avec les bac. du charbon, nous voyons qu'il existe une différence entre ces deux germes qui permet de faire les observations suivantes.

Dans les cultures en bouillon du bac. typhique pas un des artifices dont on s'est servi pour ces expériences ne permet d'exciter la dissociation. M. Buonomini (1), de notre laboratoire, en passant chaque jour 7 souches de bac. typhique, dans du bouillon à pH = 7.2, non seulement n'a pas pu démontrer qu'il se produit une phase R, mais il a constaté que la phase S augmente.

En laissant vieillir, à 37º, les cultures dans le bouillon soumises

(1) « Actes » du IVème Congrès de la Sez. Ital. de la Soc. Intern. de Microbiologie, Milan, octobre 1932.

précédemment à 28 passages quotidiens, cet Auteur n'a pu observer la présence que de colonies du type S.

Le bac. du charbon, au contraire, ne s'altère pas dans les tubes laissés à eux-mêmes à 37°, ou repiqués seulement tous les 10 jours, mais il présente des variations lorsqu'il est repiqué chaque jour à pH constant ou alterné. Il est aussi démontré que la dissociation du bac. du charbon est plus profonde si le pH est bas, c'est à dire lorsque la réaction du milieu est très défavorable au développement du germe et que les sauts du pH dissocient les cultures de ce germe avec une intensité plus grande que les culture à pH constant.

Ces expériences ne permettent pas d'en tirer des conclusions définitives, étant donné que les essais n'ont été faits que sur deux germes et sur deux souches de chacun d'eux. Mais il semble prouvé que le même agent excitant, qui n'a aucun effet sur un germe particulier, peut donner lieu à de fortes variations chez un autre.

Pour le bac. du charbon, par exemple, à la différence de ce qui se passe avec le B. typhique, le passage, tout simple, dans le bouillon de Löffler peut constituer une excitation à la dissociation, pourvu que les repiquages soient si fréquents qu'ils empêchent la formation de la spore (1).

Cet artifice, lorsque le pH du terrain est défavorable, peut produire une remarquable dissociation des cultures.

La manière de se comporter du bac. du charbon, ne peut être généralisée aux autres représentants des germes sporogènes, car les expériences, à ce sujet font défaut: d'autres recherches dans ce sens seraient sûrement très intéressantes.

Université Royale de Siena. Institut d'Hygiène et de Bactériologie.

(1) Voyez aussi mes recherches précédentes sur la dissociition du bac. du charbon (l. c.).

CONFALONE RAFFAELE – **Sur quelques propriétés biochimiques du M. Melitensis et du B. de Bang, étudiées comparativement.**

Dans le but d'arriver à en tirer, éventuellement, d'utiles éléments de différenciation, j'ai étudié comparativement quelques propriétés biochimiques du *M. melitensis* et du B. de Bang.

A propos de l'activité biochimique et métabolique de ces germes, Huddleson, Hasley, Torrey, en 1927 avaient déjà remarqué que les cultures de *B. abortus*, développent une certaine quantité de CO^2 et d' $H^2 S$ et donnent lieu à la formation de sulfate d'ammoniaque et de magnésium.

L'année suivante, Alpine et Slanetz purent constater que dans les

milieux peptonés et glucosés, le *B. abortus* d'origine bovine n'utilise pas plus du 2 % de glucose, tandis que le *M. melitensis* et le *B. abortus* d'origine humaine utilisent de 5 à 20 % de glucose. Ces AA. admettent que l'incapacité que montrent les souches d'origine bovine à utiliser cette substance est compensée par une plus grande énergie dans l'attaque des protéïnes et de leurs dérivés, en produisant de fortes quantités d'ammoniaque (NH_3), tandis que les souches d'origine humaine n'en développent presque pas.

Tout dernièrement, les recherches de Pugnani et de Cerruti, portent à admetre que la grande majorité des cultures du *B. abortus* produit de l' $H^2 S$, ce qui n'a pas lieu pour celles du *melitensis*; mais ces AA. reconnaissent aussi que ce n'est point là un caractère constant de différenciation, car il peut y avoir des souches intermédiaires qui se comportent d'une façon différente.

En faisant mes expériences sur cinq souches bien connues du groupe « *melitensis* » et sur cinq autres du groupe « *abortus* » je me suis occupé de leur capacité d'utilisation du glucose ajouté aux cultures en bouillon, de leur propriété catalytique, de leur pouvoir de réduction sur différents milieux à l'aniline et sur celui au tellurite de potassium préparés tout spécialement: j'ai aussi contrôlé le pouvoir d'inhibition que ces substances exerçent sur le developpement de chaque souche.

Pour l'étude de la *capacité d'utilisation du glucose* j'ai pratiqué la déterminaison de *l'acidité* avec une solution d'NaOH N/10 + phénolphtaleïne comme indicateur du Ph et du colorimètre de Hellige: du *glucose* en me servant de la méthode d'Issekutz et Both, en déterminant ces données d'abord sur le milieu de culture stérile et ensuite sur les mêmes milieux ensemencés, après avoir laissé les cultures dans une étuve à 37°, pendant une semaine.

Les variations que j'ai reconnues ne rendent pas facile la distinction entre les deux groupes de germes: il n'y eut que deux souches de « *melitensis* » qui donnèrent une forte consommation de glucose, tandis que les autres se comportèrent à peu près comme les B. de Bang.

En outre, les différences dans la consommation du glucose sont moindres, et il n'est pas possible dire si elles sont vraiment produites par une activité différente, ou dues plutôt à des erreurs inévitables. Il faut aussi tenir compte du fait que les produits de scission du peptone gènent légèrement — mais d'une façon sensible pour des variations aussi petites — les dosages du glucose et qu'il n'est pas possible d'éviter cet inconvénient.

La *propriété catalytique* fut étudiée en ajoutant à chaque culture en bouillon quelques goutes de $H^2 O^2$, et en observant s'il y avait production de petites bulles. Toutes les dix souches ont donné lieu à un anneau d'écume

qui, pour certaines, était de quelques millimètres plus élevé que pour les autres.

Pour étudier le *pouvoir de réduction* j'ai préparé des milieux de culture en y ajoutant des couleurs d'aniline (bleu de méthylène, fuchsine basique, rouge neutre, violet et vert de méthyle) et d'autres à base de tellurite de potassium en quantité nécessaire pour obtenir la concentration voulue sans empêcher toute fois le développement du germe, mais de façon à pouvoir reconnaître distinctement la couleur du milieu.

J'ai évalué le pouvoir de réduction d'après le degré de coloration des tubes ensemencés comparés avec la couleur du tube de contrôle laissé stérile (la lecture a été faite tous les jours jusqu'à un maximum de huit jours de séjour à l'étuve à 37°). De cette façon, j'ai constaté qu'il n'existe aucune différence appréciable entre l'activité des germes des deux groupes: ceux du groupe « *melitensis* » et ceux du groupe « *abortus* » réduisent de la même façon les milieux à l'aniline et ne provoquent aucune réduction dans ceux au tellurite de potassium.

Au cours de ces recherches, j'ai constaté aussi qu'il n'y a aucune différence dans le *pouvoir d'inhibition* que les substances ajoutées aux milieux de culture exercent sur le développement des différentes souches.

Les résultats des essais biochimiques dont je me suis ici occupé, démontrent qu'ils ne peuvent servir à établir une différenciation entre les deux germes, car le variations minimes qui furent révélées — bien qu'inconstantes et incertaines — se manifestent non seulement entre les deux groupes, mais aussi entre une souche et l'autre d'un même groupe.

Institut d'Hygiène de l'Université Royale de Naples.

VIOLA D. - **Groupes sanguins et constitution physique.**

(Relation présentée au IVe Congrès Italien de Microbiologie de Milan).

Depuis que les études de Shattock, et surtout celles de Landsteiner et Grunbaum, ont établi avec précision que l'iso-hémo-agglutination est un phénomène normal, les recherches sur les groupes sanguins se sont succedées à un rythme acceléré, passionnant et fécond. L'individualité des types sanguins a trouvé des applications pratiques dans la clinique, et a acquis une importance toujours plus grande dans la médecine légale, tout en suscitant des recherches biologiques de plus en plus nombreuses.

Il n'y a pas lieu de s'en étonner si l'on pense que la composition du sang dépend de particularités individuelles se rapportant à la constitution

générale, c'est-à-dire de la fonction des différents organes et appareils; il s'agit en somme « de l'individualité constitutionelle ».

D'autre part, la certitude acquise de la transmission héréditaire des proprietés caractéristiques biochimiques du sang a confirmé la conception que les groupes sanguins représentent une particularité individuelle de constitution. C'est ce qui a poussé à considérer la « constitution sérologique » de la même façon que la constitution morphologique, psychique, ou neuro-hormonale.

Il est connu que tout caractère spécifique d'un type exige une base génétique. Les nombreuses et différentes forces d'adaptation aux conditions du milieu ambiant peuvent produire des modifications de la personnalité, mais celles-ci ne dépassent pas les limites normales de réaction de l'équilibre organique. Les variations qui atteignent un degré susceptible de différencier des types biologiques, trouvent toujours leur base prédominante dans le facteur génétique.

C'est donc précisement pour cela que l'étude des groupes sanguins constitue un des points de repère dans la recherche de la constitution individuelle. La transmission des caractères biochimiques spécialement en ce que la transmission du sang constitue particulièrement « un des cas par lequel on vérifie de la façon la plus simple et la plus claire l'intervention des lois héréditaires » (Lattes).

Les affirmations de Landsteiner et Levine, qui démontrent comment les spermatozoïdes humains contiennent des substances identiques ou semblables aux facteurs isoagglutinants *A* et *B* des globules rouges de l'homme, acquièrent dans ce sens une valeur particulière.

Non moins intéressantes sont les observations de Shirai sur les propriétés anti-iso-hémoagglutinantes spécifiques du sperme humain, précisément capable d'inhiber l'iso-hémoagglutination d'une manière conditionnée au groupe auquel appartient l'individu fournisseur du sperme: Yamakani trouva que la sécrétion vaginale et la salive se comportent de même. En ce qui concerne la salive, le pouvoir anti-iso-hémo-agglutinant spécifique, lié aux caractères de groupe de l'individu auquel la salive appartient, fut aussi confirmé par Cuboni, et plus récemment par Busatto.

Ces recherches (à quelque cause que l'on attribue le mécanisme de production du phénomène étudié) démontrent que les qualités spécifiques de groupe ne sont pas particulières aux seuls globules rouges; d'autres cellules de l'organisme humain aussi, possèdent une différenciation biochimique avec des caractères de spécificité de groupe identique à celles des érythrocytes.

On en trouve une confirmation expérimentale dans les intéressantes recherches de Kritscheky, Schwarzmann, Kan Itiosida, et d'autres encore, sur les éléments cellulaires fixes de l'organisme humain.

Une telle participation de tout l'organisme humain au phénomène de spécificité des groupes étant démontrée, elle est une confirmation positive de l'importance de l'étude des groupes sanguins au point de vue biologique.

L'interêt de l'étude des groupes sanguins commence avec la vie même, par l'apparition précoce et certaine de l'élément agglutinable, dès les stades initiaux du dévéloppement corporel de l'individu. Les éléments agglutinants apparaissent plus tard, par suite peut être du fait même que le nouveau-né produit lentement les anticorps.

Schenck, Bertino, Baecchi, Cherry-Langrock, Kimpton, et d'autres encore, trouvèrent que le sérum des nouveau-nés manque complètement d'iso-agglutinines: mais les agglutinines, par contre, furent signalées dès la naissance par Alban, Langer, De Cassello-Sturli, Dungern, Graff-Zubrzycki, Lappont-Gaujoux, Kiriaara, Pollitzer-Rapisardi, Pistuddi, Debré-Hamburger, Zottermenn-Wildner, Ura, Crowe, Jones, Mc. Quarrie, Dyke, Budge, Travlos, etc.

Selon Hirzfeld-Zborowschi, Hara, Wakao et d'autres A., le nouveau-né ne posséderait pas d'agglutinines personnelles; il aurait celles qui lui viennent de la mère. Ces agglutinines de provenance maternelle disparaitraient pendant les premières semaines de vie, pour être remplacées, par des agglutinines personnelles qui se forment spontanément. Une stimulation aspécifique peut en accélérer l'apparition, comme le montrent les expériences de d'Halbert, Hirszfeld, Mayzner, etc.

Quelques auteurs trouvèrent des agglutinines même chez le foetus: Jones, dans un foetus âgé de sept mois; Happ dans 22% des cas, dès le 3ème mois; dans 31% des cas, entre le 4ème et le 6ème mois; dans 69%, entre le 6ème et le 12ème mois; dans 100%, après un an.

Les agglutinogènes apparaissent sûrement d'une façon plus précoce; Ghnesorge trouva des agglutinogènes dès le 4ème mois de la vie intra-utérine. Dungern-Hirszfeld, Badino, Klaften, trouvèrent ceux-ci au 6ème mois; Pistuddi, au 7ème mois.

Kemp trouva, soit l'agglutinogène *A*, soit l'agglutinogène *B* développé dès le 3ème mois de la vie intra-utérine, et bien que les réserves faites par Pozzi semblent justifiées, quant à l'irrégularité avec laquelle on peut vérifier la présence de ces agglutinogènes, il est cependant certain que celle-ci se manifeste de façon très précoce. D'après quelques observations que j'ai faites, l'apparition certaine et contrôlable des agglutinogènes coïncide avec l'arrivée au terme de maturité vitale, dans le développement du foetus.

N'importe comment, il est certain qu'à la naissance les agglutinogènes sont nettement établis; et, sur ce point, se trouvent d'accord les recherches de Dungern, Jones, Dyke, Budge, De Biasi, Kirihara, Travlos, Jervell, Badino, etc.

Mais au début de la vie extra-utérine les caractères de groupes spécifiques évoluent en divers processus de maturation sérologique (Hirszfeld) ou bien, vers une stabilisation définitive, que Lattes dénomma le « développement ontogénétique des groupes ».

D'après Mei mer le type se stabilise définitivement pendant la première année de vie; d'après d'autres, il se stabilise complètement à deux ans environ.

Lorsque le caractère groupe-spécifique s'est stabilisé, il reste pendant toute la vie comme caractère fixe, immuable dans le temps. Il n'est susceptible d'aucune modification, ni vis-à-vis de n'importe quel état physiologique ou pathologique, ni vis-à-vis d'actions pouvant résulter d'interventions thérapeutiques (pharmacologiques, protéïniques, vacciniques, sériques, etc.), ou d'actions physiques, ou de quelque autre circonstance accidentelle. Des expériences de Palmieri, et d'autres Auteurs, ont démontré que les caractéristiques de spécificité de groupe, persistent pendant un certain temps, même après la mort, par exemple pendant 15 jours chez les cadavres qui n'ont pas été enterrés, même quand ceux-ci sont en cours de décomposition. Il est bien probable que la période de temps mentionnée ci-dessus soit plus longue pour les cadavres inhumés, qui se conservent mieux que ceux laissés à l'air libre.

De toutes façons, il est certain que le caractère de spécifité de groupe est une propriété qui s'établit déjà chez l'individu quelque temps avant sa naissance, qui se stabilise de bonne heure après sa naissance, qui subsiste sans aucune modification, pendant toute la vie, et qui continue, quelque temps encore, après sa mort.

Le caractère de spécificité de groupe pendant la période où il se détermine et celle où il se stabilise subit certainement l'influence de l'hérédité.

Cette influence héreditaire est démontrée par l'apparition précoce des agglutinogènes qu'on a défini comme des caractères primitifs, tandis que les agglutinines, qui se développent plus tardivement, sont regardées comme un caractère secondaire.

Or, l'agglutinogène est un caractère cellulaire propre des globules rouges, déterminé de bonne heure, d'une façon primitive, précisément sous l'influence des lois de l'hérédité des caractères biologiques. Les agglutinines par contre sont le produit d'une élaboration cellulaire (dont le mécanisme demeure encore obscur), et c'est pour cela qu'elles se développent tardivement, comme caractère secondaire.

Ce sont là les raisons pour lesquelles les propriétés agglutinogènes *A* et *B* ne peuvent pas apparaître chez les enfants si elles n'existent pas chez un des parents. C'est pour ce motif que les propriétés agglutinogènes *A* et *B* sont dominantes au sens mendélien; lorsqu'elles font défaut, c'est un caractère récessif.

C'est une loi invariable que les deux qualités *A* et *B* restent toujours complètement autonomes et indépendantes entr'elles, ainsi que le comprend Bayon; on peut donc croire bien démontré, que les qualités sanguines *A* et *B* ne se retrouvent jamais chez les enfants si elles n'existent pas chez les parents, ou au moins chez l'un des parents. Si le père et la mère ont la même qualité sanguine, celle-ci est, généralement, transmise à tous les enfants. Mais elle peut manquer chez quelques-un des enfants, si l'un des parents possède la qualité *A* (ou la qualité *B*) et l'autre non; presque chez tous les enfants on retrouve la même qualité possédée par l'ascendant. Si chez les deux parents, les qualités *A* et *B* manquent, elles manquent aussi, toutes les deux, dans le sang des enfants. En ce qui concerne l'hérédité du caractère de la spécificité de groupe, qui est sans doute un des phénomènes plus intéressants de la sérologie constitutionnelle, je crois que, de l'ensemble des très nombreuses recherches faites jusqu'ici, depuis celles faites tout au début par Langer (1903), Hectoen (1907), Dungern-Hirszfeld (1909), jusqu'à la théorie de Bernstein (1924), et aux études ultérieures, on puisse accepter sans réserve les conclusions formulées par Lattes, c'est-à-dire que:

1º) on admet la transmission héréditaire du groupe sanguin comme certaine;

2º) cette transmission se vérifie d'après une règle mendélienne, et les propriétés agglutinables *A* et *B* jouent le rôle de caractère dominants;

3º) on doit considérer comme actuellement démontré que la transmission des groupes sanguins se fait par deux caractères allélomorphes dont l'un provient du père, l'autre de la mère: les allélomorphes possibles sont au nombre de trois (allélomorphes multiples), dont la combinaison, deux par deux, produit six groupes sanguins génotypiques.

Récemment (1931) Nicoletti, en étudiant la relation entre les groupes sanguins et les caractères anthropologiques (teint de la peau, conformation de la main, couleur et forme des cheveux, caractères de la tête, de l'oreille, de l'oeil, etc.) remarqua que le caractère groupe-spécifique, du point de vue héréditaire se comporte comme n'importe quel autre caractère anthropologique somatique. Il peut ne pas être transmis, sans que, pour cela cependant, la transmission d'autres caractères anthropologiques fasse défaut: il peut tout de même y avoir une ressemblance héréditaire prononcée. Par contre, quand on a la transmission héréditaire du caractère groupe spécifique dominant, on a toujours la transmission de quelques caractères anthropologiques (spécialement des caractères concernants les cheveux et les yeux).

La valeur anthropologique constitutionnelle des groupes sanguins consiste donc dans le fait qu'on hérite ces groupes. Cette hérédité, comme

il a été dit précédemment, suit la loi de Mendel, et d'après la règle précisée dans la formule de Bernstein.

Ce sont donc là les bases par lesquelles le groupe acquiert son caractère fondamental de race. De vastes recherches, faites dans ce sens, ont largement démontré qu'il existe une distribution anthropologique différente des propriétés spécifiques de groupe; elles ont établit des affinités ethno-biochimiques entre les différents peuples.

Par l'étude systématique nationale et régionale des groupes sanguins, on a pu établir les différences de pourcentage de proportion des divers groupes selon la prépondérance de la race primitive ou originaire sur les infiltrations plus ou mois répétées et profondes qui se sont suivies au cours des temps.

Aujourd'hui, on admet généralement la répartion approximative suivante des groupes sanguins en Europe:

Groupe $O = 38\%$; Groupe $A = 40\%$; Groupe $B = 16\%$;
Groupe $A\,B = 5\%$.

Les nombreuses statistiques publiées s'accordent toutes, pour mettre en évidence la notable prédominance de l'agglutinogène A sur l'agglutinogène B chez les populations européennes occidentales, et chez celles qui en dérivent.

La prédominance de l'agglutinogène A diminue en se déplaçant de l'Europe Occidentale envers l'Est et le Sud. Inversement, le pourcentage de l'agglutinogène B augmente proportionnellement. Il est plus élevé en Asie et en Afrique.

Les populations situées entre l'Europe occidentale d'une part, l'Asie et l'Afrique de l'autre, ont des proportions intermédiaires.

Pour l'Italie les trois statistiques nationales les plus nombreuses existantes jusqu'ici donnent les chiffres suivants:

Auteur	Année	Nombre des individus examinés	Fréquence du groupe: pour cent			
			O	*A*	*B*	*A B*
Hirszfeld	1919	500	47,02	38,0	11,0	3,80
Cuboni	1928	1500	45,6	40,46	10,6	3,33
Viola	1929	2000	37,3	44,9	11,4	6,80

Les différences, comment on voit, ne sont pas très sensibles; celles qu'on observe sont certainement dues à la diversité des mélanges interrégionaux étudiés par les différents auteurs.

Dans un de mes travaux, en étudiant les valeurs en pourcentage de la fréquence des groupes sanguins dans les diverses provinces d'Italie, j'ai mis en évidence que par l'identité des chiffres, on doit grouper ensemble les régions situées au nord et à l'est, et celles au sud et à l'ouest, par rapport à la chaîne montagneuse des Appenins, en laissant à part la Sardaigne et la Sicile.

J'ai cru remarquer aussi, au point de vue biochimique aussi bien qu'anthropologique, que les populations de l'Italie rossentaient des croisements des races dues aux différentes dominations qui se sont succedées dans le bassin de la Méditérannée, au cours des siècles.

Des observations semblables avaient été faites avant moi par le Romanese sur la population de la Sardaigne; en étudiant la distribution des groupes sanguins dans la province de Cagliari, l'Auteur avait trouvé un index biochimique de race chez les Sardes, comparable à celui des Turcs macédoniens, des Hongrois, des Arabes. Il en avait tiré la conclusion que les Sardes devaient avoir fortement ressenti l'influence de leurs relations avec les peuples qui avaient habité les côtes orientales et méridionales de la Méditeranée.

Nicoletti arriva ensuite à des conclusions identiques pour des colonies albanaises de la Sicile, chez lesquelles l'Auteur, à plus de quatre siècles de distance depuis leur immigration en Sicile, trouva une fréquence de groupes sanguins et un index biochimique de race, tout à fait différents de ceux des autres populations de la Sicile. Nicoletti remarqua aussi que le pourcentage différent des groupes sanguins de ces populations albanaises de la Sicile allait de pair, avec les différences de caractères anthropologiques vérifiables chez elles, telles que la couleur des cheveux. L'index biochimique de la population sicilienne est inférieur à celui des autres régions de l'Italie et il est comparable à celui trouvé par Romanese pour les habitants de Cagliari. L'Auteur, est ainsi porté à penser, lui aussi, que chez les populations de l'Italie Méridionale et des Iles, l'influence des invasions et de la domination de la race méditerranéo-africaine, avec laquelle ces populations présentent de grandes affinités groupe-spécifiques, à été plus fortement ressentie.

Del Carpio, lui même, en étudiant la fréquence des groupes sanguins dans les provinces de La Spezia trouva des pourcentages différents de ceux présentés par les autres populations italiennes; l'Auteur attribua ce fait à l'endogamnie qui prédominait autrefois nettement dans cette région, et il en tira des considérations propres à établir la situation ethno-anthropologique de la population ligurienne, vis-à-vis du reste de la population italienne.

Gaetano, en étudiant la distribution des groupes sanguins dans la province de Naples parvint à la conclusion que l'index biochimique

de cette population, tout en présentant un type nettement occidental, est cependant un peu plus orientalisé que celui de la population italienne totale; cela semble parfaitement justifié à l'Auteur qui songe aux nombreux contacts que Naples et son golfe ont eu, aux cours des siècles, avec l'Orient.

Ces remarques trouvent de fortes confirmations dans le résultat des études de Tedeschi, Mazzola, Taddia, et Medulla, au sujet de la distribution des groupes sanguins dans les populations indigènes de l'Afrique occidentale. Les recherches sur la distribution proportionnelle des groupes sanguins chez les différentes populations et sur la valeur éthno-anthropologique des propriétés de spécificité de groupe continuent sur une vaste échelle; on a annoncé une vaste enquéte nationale, qui sera accomplie en Italie par le Service de Santé militaire; ainsi, les conclusions qui ont été formulées jusqu'ici, seront certainement modifiées, et les affirmations actuelles peuvent n'avoir qu'une valeur absolument provisoire.

De toute façon, ces études que j'ai très sommairement relatées démontrent l'importance au point de vue biologique de la recherche des correspondances éventuelles entre les groupes sanguins et les caractères anthropologiques et constitutionnels.

Les divers Auteurs ont à ce propos des opinions discordantes. En effet, tandis que d'un côté L. et H. Hirzsfeld, Weszeszki, et Werzar, Dossena-Lanzara, etc., affirment qu'il n'y a aucun rapport entre les groupes sanguins et le poids, les dimensions du corps, le teint de la peau, la couleur des cheveux, etc., d'un autre côté, déjà depuis 1924, Rietz démontra les rapports entre les groupes sanguins et la forme du crâne, constatant la prédominance du groupe *A* sur le groupe *B* chez les dolichocéphales, par rapport aux brachycéphales. D'après l'Auteur, les dolichocéphales représenteraient la race pure, tandis que les autres indiqueraient des infiltrations ethniques.

Romanese, en 1926, remarqua des différences entre les Sardes blonds, châtains et bruns, et entre les dolichocéphales et les brachycéphales. Le groupe *A* prévaut chez les blonds et les châtains par rapport aux bruns, et chez les brachycéphales par rapport aux dolichocéphales.

Klein et Ostboff, Rosenfeld, et d'autres parvinrent aussi à des conclusions analogues. Apert, en 1928, trouva la prédominance du groupe *A* chez les blonds dolichocéphales, Montanari au contraire, trouva chez les dolichocéphales la prédominance du groupe *O*; Nicoletti trouva l'index biochimique de race inférieur chez les bruns dolichocéphales au nez court ayant les narines élargies et des index plus hauts chez les blonds; il trouva les plus grandes différences dans la couleur des cheveux, et les moindres dans la conformation du crâne.

Moi même, en 1929, sur 670 individus examinés, je trouvai, une plus

grande fréquence du groupe *B* chez les individus aux cheveux bruns et au crâne dolichocéphale, tandis que j'ai constaté une prépondérance fort évidente du groupe *A* chez les blonds de n'importe quelle conformation crânienne (56,7%, en comparaison de 8,9%) et surtout chez les blonds brachycéphales (58,8%, en comparaison de 4,7%) et aussi chez les brachycephales ayant les cheveux d'une couleur quelconque (49,4%, en comparaison de 3,7%). Les index biochimiques plus bas se trouvent donc, chez les individus aux cheveux bruns et au crâne dolichocéphale, et les index plus hauts chez les blonds brachycéphales.

En 1930 Mme Tamburri en examinant soigneusement 200 sujets, et en étudiant les valeurs, taille, torax, abdomen, tronc, membres, en comparaison des groupes sanguins, remarqua, un développement somatique insuffisant chez les individus appartenant au groupe *O*. Ceux-ci présentent des valeurs somatiques insuffisantes: longitypie dans la proportion du 36,5% chez les individus appartenant au groupe *B*; des caractèristiques précises de brévitypie et de mégalosplanchnie chez les individus appartenant au groupe *A B*.

J'ai répété cette année les observations de Mme Tamburri et j'en comunique ici les résultats encore inédits.

J'ai examiné 540 individus, des hommes jeunes, de 20 ans, soldats, d'une saine constitution, et je les ai examinés en parfait état de santé et d'état général.

Ces 540 individus provenaient de différentes provinces de l'Italie et précisément de la Lombardie, de l'Emilie, de la Toscane, des Marques, de la Campanie, de la Calabre, de la Sicile, et de la Sardaigne. En les séparant par groupes, en septentrionaux, centraux et méridionaux (comprenant dans ce dernier groupe: les insulaires) j'ai pris soin que chaque groupement régional eût le même nombre de sujets, soit 180. J'eus aussi la précaution d'avoir à peu près le même nombre d'individus en les divisant en deux groupes selon leur provenance en prenant pour ligne de démarcation: la chaîne montagneuse des Appenins.

Le but était ainsi de me procurer un mélange homogène et, autant que possible, équilibré.

Les 540 individus étaient ainsi partagés dans ces quatre groupes:

Groupe *O* . . .	N. 201 (37,2%)	Groupe *A* . . .	N. 255 (47,2%)
» *B* . . .	» 58 (10,7%)	» *A B* . .	» 26 (4,8%)

Les 201 individus du groupe *O* présentèrent les valeurs anthropometriques suivantes:

	Au dessus de la normale	Normale	Insuffisance
Mesure de la taille	61 soit (30,3%)	40 soit (19,9%)	100 soit (49,7%)
Mesure du thorax	56 » (27,8%)	31 » (15,4%)	114 » (56,7%)
Mesure totale de l'abdomen	59 » (29,3%)	26 » (12,3%)	116 » (57,7%)
Mesure du tronc	82 » (40,8%)	21 » (10,4%)	98 » (48,7%)
Mesure des membres . . .	48 » (23,8%)	39 » (19,4%)	114 » (56,7%)

Comme on le voit, les insuffisances des pourcentages de diverses valeurs sont vraiment importantes; je crois donc possible de conclure, avec Mme Tamburri, que, même en étudiant des sujets tous également jeunes et sains (et non seulement des individus de différents âges ou atteints d'affections diverses, ainsi que l'a fait Mme Tamburri), il apparait évident qu'au groupe *O* appartiennent en prépondérance des individus ayant des mesures corporelles insuffisantes, que, dans la plus part des cas, on peut inscrire au type mixte de Viola.

Les 255 individus du groupe *A* présentèrent les valeurs anthropométriques suivantes:

	Au dessus de la normale	Normale	Insuffisance
Mesure de la taille	131 soit (51,3%)	50 soit (19,6%)	74 soit (29,0%)
Mesure du thorax	111 » (43,5%)	47 » (18,4%)	97 » (38,0%)
Mesure totale de l'abdomen	87 » (43,1%)	27 » (10,5%)	141 » (55,2%)
Mesure du tronc	106 » (41,5%)	29 » (11,3%)	120 » (47,0%)
Mesure des membres . . .	129 » (50,5%)	26 » (10,1%)	100 » (39,0%)

J'ai donc remarqué, dans l'ensemble, que même chez les individus de ce groupe, il y a une insuffisance des valeurs normales; néanmoins, il existe un équilibre des valeurs au dessus de la normale et insuffisantes (qui n'existait pas dans le groupe *O*). J'ai remarqué, en plus, un caractère prédominant de longitypie; ces derniers aussi étaient des individus appartenant au type mixte de Viola.

Les 58 individus du groupe *B* présentèrent les valeurs anthropométriques suivantes:

	Au dessus de la normale	Normale	Insuffisance
Mesure de la taille	17 soit (29,4%)	4 soit (6,8%)	37 soit (63,7%)
Mesure du thorax	31 » (53,4%)	4 » (6,8%)	23 » (39,7%)
Mesure totale de l'abdomen	32 » (55,4%)	2 » (3,4%)	44 » (41 3%)
Mesure du tronc	36 » (62,0%)	3 » (5,1%)	19 » (32,7%)
Mesure des membres . . .	18 » (31,0%)	4 » (6,8%)	36 » (62,0%)

Comme on le voit, dans ce groupe, la mesure du tronc prévaut sur celle des membres, et les sujets qui y appartiennent présentent généralement d'évidentes caractéristiques de brévitypie et de mégalosplanchnie.

Les 26 individus du groupe *A B* présentèrent les valeurs anthropométriques suivantes:

	Au dessus de la normale	Normale	Insuffisance
Mesure de la taille	5 soit (19,2%)	4 soit (15,3%)	15 soit (57,6%)
Mesure du thorax.	13 » (50,0%)	2 » (7,6%)	11 » (42,3%)
Mesure totale de l'abdomen	15 » (57,6%)	2 » (7,6%)	9 » (34,6%)
Mesure du tronc	18 » (7,2%)	3 » (11,5%)	5 » (19,2%)
Mesure des membres . . .	8 » (30,7%)	2 » (7,6%)	16 » (61,5%)

Donc, même chez les individus de ce groupe, la mesure du tronc prévaut sur celle des membres, de même que chez ceux du groupe *B*; mais, en plus, les caractéristiques de brévitypie et de mégalosplanchnie sont plus évidentes et plus marquées.

Tout l'ensemble de mes recherches coincide avec celles de Mme Tamburri, et me permettent de conclure qu'en examinant dans un mélange régional national italien homogène et assez équilibré, 540 individus jeunes et sains, âgés de 20 ans, j'ai observé que les groupes *O* et *A* comprennent généralement des individus qui présentent des valeurs corporelles insuffisantes, individus au type mixte ayant des caractéristiques prépondérantes de longitypie. Les groupes *B* et *A B* comprennent généralement des individus qui présentent des caractéristiques prépondérantes de brévitypie et mégalosplanchnie.

Loin de moi d'ailleurs la pensée que ces conclusions doivent avoir une valeur définitive.

Cependant les observations que j'ai exposées, tirées des recherches de différents Auteurs et de ma contribution personnelle actuelle, démontrent assez clairement le rapport intime, constant et fixe existant entre les propriétés spécifiques de groupe et les caractères somatiques.

On pourra encore dans ce champ, comme on le fera certainement, déplacer les valeurs respectives des divers facteurs, mais sans altérer, pour cela, les bases mêmes du principe scientifique établi.

Par application de ce principe que j'appellerai fondamental, on a demontré qu'en dehors des éléments de correspondance relative entre les groupes sanguins et les caractères somatiques, il existait aussi des rapports entre les groupes sanguins et d'autres caractères constitutionnels individuels plus intimes.

En effet, l'étude de la constitution sérologique a mis en évidence l'existence d'un parallélisme existant entre le facteur constitutionnel

héréditaire et la faculté de réaction immunitaire des organisme (élément qui, à son tour, est un facteur constitutionnel héréditaire).

C'est à ce parallélisme qu'on doit l'existence de rapports particuliers entre le pourcentage de fréquence des groupes sanguins et le pourcentage de fréquence de certaines tendances morbides déterminées par la nature constitutionnelle.

Dans l'état actuel des recherches, ce rapport est acquis, par la plupart des Auteurs, pour quelques maladies; pour d'autres, les opinions ne concordent pas.

Ainsi, tandis que de recherches d'Alexander d'abord, de Weitzner et de Bendlen ensuite, montrèrent que chez les individus appartenants au groupe *A B* il existe une disposition particulière au cancer, d'autres parmi lesquels Dujaric de la Rivière, Kossovitch, etc., trouvèrent chez les cancéreux, le groupe *B* prédominant et le groupe *A B* relativement rare; Yohannsen trouva une prédominance des groupes *A* et *A B*. D'autre part, les recherches de Brettner mirent en évidence une résistance particulière aux tumeurs malignes chez les individus appartenant au groupe *O*; Dossena-Lanzara, inversement, remarquèrent chez les individus du même groupe *O* une disposition particulière aux tumeurs malignes. Par contre, d'autres recherches de Cavalieri, De Castello, Buchmann. Plahler-Widmann, Higley, Hoche-Moritsch, etc., excluent d'un commun accord l'existence de tout rapport entre les groupes sanguins et la disposition à contracter des tumeurs malignes.

De même, les conclusions sur les rapports possibles entre la tuberculose pulmonaire et les groupes sanguins ne concordent pas. Sur ce point, on peut citer les travaux de Pantschenkowa-Agte, Alperin Avdejvo, Griezevicz, Hollo-Lenard, Dujaric, Kossovitcht, Lovaglio, Brewedo, De Paoli, etc. Des recherches d'Ernest, Hoetschel, Lenard, Conuhert, et d'autres, excluent tout rapport entre la tuberculose pulmonaire et les groupes sanguins; Swder et Kon, trouvèrent au contraire, que les individus qui appartiennent au groupe *A* ont une plus grande disposition à la tuberculose, et que chez les individus de ce groupe l'évolution de la tuberculose pulmonaire est plus grave.

D'autre part Dujaric et Krossovitch, remarquèrent une prédominance du groupe *B* chez les tuberculeux hémophtoïques.

Pour ce qui concerne la malaria et la syphilis, les résultats des recherches de Ljakowscki, Leisermann, Kadletz-Kusmina, Lovaglio, etc., se trouvent aussi en désaccord.

Dans le champ des maladies du système nerveux, il y a un accord plus grand dans les résultats. Toulouse, Schiff et Weismann-Natter, rencontrèrent une prédominance du groupe *O* sur le groupe *A*, chez les malades atteints de paralysie générale progressive, de syphilis cérébrale,

de tabès dorsal. Lovaglio trouva une plus grande fréquence du groupe *O* chez les syphilitiques; Wielczkowschi trouva en prépondérance le groupe *A B* chez les paralytiques progressifs; Meyer dans la même maladie trouva le groupe *A* prédominant.

Récemment, Bravetta conclut un de ses travaux en affirmant que dans la paralysie progressive le pourcentage des groupes sanguins se maintient dans les mêmes rapports que dans les sujets normaux, et que le groupe sanguin ne subit aucune modification après la malario-thérapie ou n'importe quel autre traitement pyrétogène.

Par contre, des recherches de Bernstein, Pilcz, Proescher et Arkush, Perkel et Israelson, Fattovich, Ljakouwscki, Barzach, et Feldmann, Gundel et Tornquist, Ohnsorge, Grauberg, Rozental et Hermann, etc., bien qu'elles ne concordent pas dans les résultats au sujet d'un groupe plutôt que d'un autre, concluent cependant toutes également, qu'il existe une certaine interdépendance relative entre les maladies du système nerveux central et la fréquence des groupes sanguins.

Tout compté, en l'état actuel de nos connaissances, il me semble que, tandis qu'on n'est pas encore autorisés à tirer des conclusions sans faire des réserves sur le rapport entre groupes sanguins et la tendance à contracter des tumeurs malignes, la tuberculose ou la malaria, etc., je crois qu'avec plus de vraissemblance, on puisse admettre l'existence d'une certaine proportionnalité générique entre une plus grande fréquence de certains groupes sanguins déterminés, et une tendance particulière à quelques maladies du système nerveux.

Ce sont les conclusions générales auxquelles on peut arriver, sur les rapports entre les groupes sanguins et les maladies mentales.

Meyer trouva la prépondérance du groupe *B* dans les formes maniaco-dépressives. De même, les recherches de Böhmer, Schutt, Gundel, Pilcz, Proescher-Arkush, etc. font ressortir pour le groupe *B* une faiblesse particulière du système nerveux qui constitue un caractère particulier.

Fattovich trouva que dans la phrénasthénie prédominait le groupe *O*. Lamonier montra un parallélisme rigoureux entre la transmission des groupes sanguins et l'hérédité des tempéraments schizophréniques ou paranoïdes.

Les très importantes recherches de Fattovich présentent un intérêt particulier et méritent d'être sérieusement méditées.

Palmieri, en étudiant la distribution des groupes sanguins chez des aliénés criminels, trouva chez eux une fréquence relative plus grande des groupes *B* et *A B*, par comparaison avec la population normale; cette prépondérance parut à l'Auteur particulièrement remarquable pour les déments précoces et les paranoïques: la prépondérance des groupes *B* et *A B* est plus remarquable chez les délinquants contre la proprieté, chez les homicides et chez les récidivistes.

Böhmer aussi, et Gundel ensuite signalèrent la fréquence rélative du groupe *B* parmi les criminels observés par eux dans le prisons de Kiel. Les opinions discordantes ne manquent pas à ce propos; ainsi Foster communique de n'avoir remarqué auçun rapport entre les groupes sanguins et la criminalité; Hennemann aussi, relata, que de l'examen de 310 prisonniers, il ne pouvait pas tirer des relations de correspondance entre le groupe sanguin et les différentes formes de criminalité; l'Auteur, seulement chez les prisonniers du groupe *B*, ne remarqua pas des crimes aussi graves que chez ceux des autres groupes.

Récemment Bravetta après d'intéressantes recherches sur mille malades mentaux, retient que la plus grande tendance générique à contracter des maladies mentales existe chez les individus appartenants au groupe *O*, et que les probabilités moindres se trouvent chez les individus appartenant au groupe *A B*.

Ainsi donc, comme je l'ai déjà dit plus loin, même dans le champ des maladies mentales, tout en se réservant d'attendre des résultats ultérieurs auxquels on parviendra certainement, ou peut accepter comme scientifiquement prouvé qu'il existe un parallélisme entre les groupes sanguins et les maladies mentales; on devra déterminer avec une plus grande précision le rapport de fréquence d'un groupe ou de l'autre avec la morbidité pour certaines maladies mentales.

De toutes façons, en tenant compte des remarques qu'on peut déduire de la littérature déjà existante, je crois qu'en l'état actuel des choses, les conclusions de Bravetta sont les plus acceptables. L'importance de ces constations est évidente pour poursuivre l'étude de la constitution sérologique. Par ces études, on aborde directement ce qui concerne la question des rapports éventuels entre la constitution sérologique et les caractères psycho-constitutionnels, la question a déjà été discutée, mais elle doit être encore éclaircie. Les études qui aborderont ce problème vont prendre certainement une telle importance qu'elles dépasseront le champ des recherches purement scientifiques; elles vont constituer un précieux matériel que la biologie fournira à l'anthropologie criminelle pour d'intéressantes déductions applicables dans le champ juridico-social.

Un même interêt, non seulement biologique et clinique, mais aussi social, est présenté par les études entre les rapports des groupes sanguins et de quelques autres maladies.

C'est ainsi que les recherches de Breitner sur la plus grande fréquence de l'anémie pernicieuse chez les individus du groupe *A* sont très interessantes. Non moins intéressantes, sont les observations de Minoresco et Stefanoy, qui trouvèrent plus fréquemment l'apparition de la petite vérole, de la coqueluche, de la scarlatine chez les individus du groupe *A*; on doit observer pourtant que Ztnikoff ne constata pas ce rapport. Mais,

cela ne diminue pas la valeur des recherches de Minoresco et Stefanoy, ainsi que des recherches de Poehlmann, Hermann, Kromberg, Pagani-Cesa, Pastore, Ferrari, etc., sur la psoriasis, l'hyperthyroïdisme, le rachitisme, l'adénoïdisme, la spasmophilie.

Intéressantes aussi sont les recherches d'Hirszfeld et Brokmann sur les rapports entre la disposition à contracter certaines maladies infectieuses et l'hérédité des groupes sanguins; ces recherches particulièrement étendues aux égards de la diphtérie, induisent les auteurs à conclure que la réceptivité à la diphtérie, c'est-à-dire l'absence ou la difficulté à produire de l'antitoxine spécifique, est héréditaire et en rapport avec les groupes sanguins.

A des considérations analogues parvinrent Fürst pour l'hérédité de la goutte, de l'arthritisme et des insuffisances endocriniennes, ainsi que Moritsch, Kubany et d'autres, pour l'hémophilie et pour diverses maladies.

Récemment Montanari et Mme Tamburri, indépendamment l'un de l'autre, conclurent que les lésions des appareils respiratoires, endocriniens, et du système nerveux surtout, sont plus fréquentes chez les deux premiers groupes que chez les deux autres.

Ainsi que je l'ai laissé prévoir de l'ensemble de ces recherches et d'autres (dont je ne peux citer les références, pour abréger), on peut déduire, comme suffisamment démontrée, l'existence d'une proportionnalité (pour le moment encore inexactement précisée) entre le pourcentage de la morbidité de certaines maladies ou la tendance à certaines autres, et la fréquence de l'un ou de l'autre groupe sanguin.

Ces rapports entre les groupes sanguins et les facilités de développement de la maladie, et, plus encore, les rapports entre les groupes sanguins et la réaction immunitaire des organismes, les rapports entre la constitution sérologique et les caractères psycho-constitutionnels, les rapports entre les groupes sanguins et les caractères somatiques, entre l'hérédité des groupes sanguins et l'hérédité de caractères physiques, entre les groupes sanguins et les caractères ethno-anthropologiques, démontrent tous clairement, dans l'ensemble, combien vastes et intimes sont les rapports entre la constitution sérologique et la constitution physique.

Il est certain qu'on n'est encore qu'aux premiers pas dans cette voie, mais l'horizon est vaste et clair, et le chemin à parcourir est large et sûr.

En l'état actuel des recherches, toute conclusion à ce propos, si elle veut se maintenir dans le domaine strictement scientifique et tirer seulement les dédutions certaines, des faits observés, ne peut nécessairement pas sortir de l'hypothèse.

Aujourd'hui, par synthèse des faits, on peut seulement dire que, à coté des constitutions, morphologique, neuro-hormonale et psychique,

il existe une constitution sérologique, et que les rapports démontrés, existant entre la constitution physique et la constitution sérologique doivent être interprétés comme des rapports indirects dans ce sens que la constitution sérologique et la constitution physique représentent des coefficients de la diversité de l'origine atavique.

En dehors des antigènes, dans les cellules, il y a sûrement aussi des anticorps dans les humeurs; ces anticorps sont héréditaires, et on peut les qualifier d' « anticorps constitutionnels ».

Cette réactivité humorale de l'organisme est un phènomène de sérogénèse qui se développe parallèlement aux phénomènes de morphogénèse et de psychogénèse.

C'est le mérite incontestable de l'étude des groudes sanguins d'avoir révélé ces phénomènes. Les recherches futures vont sans doute mettre en évidence des rapports individuels plus grands et plus suggestifs, plus intimes et plus féconds entre l'entité physico-constitutionnelle, et les caractéristiques sérologiques.

Cela viendrait à l'appui des bases de la sérologie constitutionnelle envisagée par Hirszfeld; l'étude de celle-ci déviendra indispensable comme élément nécessaire à la synthèse bio-typologique individuelle.

Mais, cette affirmation que je formule comme un souhait pour l'avenir, a déjà aujourd'hui en elle même les éléments d'une conception scientifique, certainement démontrée.

Cette rapide synthèse a été certainement incomplète; mais elle a cependant démontré quel est dans ce champ l'état actuel des connaissances: des verités se sont affirmées; d'autres attendent une démonstration; elles pourraient déjà être envisagées dès maintenant, mais cela sortirait des limites de ma communication, même si j'avais les moyens de le faire et la compétence indispensable qui me manque.

* * *

Pour la bibliographie, voir l'index complet contenu dans: Lattes Leone, « L'individualité du sang », Masson ed., Paris 1929 et de la même et très récente édition anglaise, de la Oxford University Press., 1932. — Steffan Paul, « Handbuch der Blutgruppenkunde », Lehmans ed., München 1932.

Institut de Médecine légale de la R. Univ. de Pavie.

MALCOLM H. SOULE – **Microbic dissociation.**

INTRODUCTION. — Casual reading of contemporary literature and the perusal of the agendae of the scientific meetings of the allied societies impresses one with the fact that microbic dissociation is commanding the attention of a considerable proportion of those whose interests are the lower forms of life. Looking backward it will be noted that this epoch had its inception with the year 1921. About this time the curious fact presented itself, supported by considerable data, that if progress were to be made workers must turn from the study of what bacteria do and give some thought to an investigation of what bacteria are.

For years ample evidence had been accumulating pointing to the instability of bacterial species but the tenets of Koch, especially, maintained the belief in the fixity and unalterable character of species. This conception of constancy was a necessary stage in the advance of bacteriology, for only chaos would have followed had the pendulum swung in line with the extreme possibilities expounded by Nägeli, such as the changing of cocci to rods, and rods becoming spirals over night.

In postulating the stability of form and reaction, the claiming of the ability to recognize an infecting micröorganism naturally followed; the same species from different sources should be of uniform appearance and give identical characters of growth and of biochemical and other reactions. If such continuity had not been expounded identification would have been impossible. This sane, perhaps too sane view, no doubt, sometimes led to error but even the most radical of the present day workers cannot deny that an insistance on uniformity of morphology and other characters enabled the constant relation of certain kinds of bacteria to special diseases, and to special chemical and physical processes to be firmly established and the science of bacteriology to be rapidly, and what is more important, surely extended.

In any discussion devoted to variability in microbic life it is impossible to avoid allusion to the pioneer work of Pasteur in this field. The publications of this immortal worker on the attenuation of the chicken cholera organism by aging in broth; the control of the virulence of the anthrax bacillus by cultivation at abnormal temperatures and the changes impressed on the virus of hydrophobia by animal passage make his contributions appear very modern and well in keeping with the studies of today. For Pasteur, however, this phenomenon was simply the prelude to man's conquest of disease.

During the past decade the zealous researches and far reaching conclusions of some of the investigators, many of which sound a very discord-

ant strain, have resulted in what might be properly called new laws. So vast, however, has the subject matter and field of inquiry of the problem of variation become that it behooves one to consider only those aspects of the problem to which he himself has contributed.

THE DISSOCIATIVE REACTION. — The study of bacterial variation has for the major part concerned itself with changes noted in artificial cultures. In the majority of instances variation itself has been a by-produce rather than the primary aim of the inquiry but from the maze of isolated reports, on widely different branches of research, a definite trend has been noted resulting in a study of dissociation itself.

The races of bacteria appear to a certain extent to be moulded by their surrounding so that the approach to enforced variation proceeds along the paths of changing the environment and that of selection. In the host we are impressed by the stability of the bacterial species and this fact has enabled the diagnosis of a specific disease by demanding that the invading organism must exhibit certain definite attributes. We cannot vary the host, therefore, the culture tube offers the best opportunities for the study of variation but we must ever be cognizant of the fact that changes which occur in the test tube under the influence of varying environmental conditions do not necessarily appear in the infected animals where the surroundings are exceedingly constant. On the other hand much has been learned from the detailed study of these changes occurring in the test tube that have not infrequently led to the successful search for analogous variants in nature. The most fruitful results have been associated with the serological study of the variants but other phases have had their reward.

Of the cases of microbic dissociation early described the majority were observed as occurring spontaneously or were the incidental or accidental result of endeavors having another purpose in mind. The earliest methods consciously employed for securing variation involved the use of old broth or agar cultures, subsequently it was noted that temperatures above the otimum were able to stimulate variation and gradually the category of incitants was enlarged to include such diverse stimuli as food substances, physical state of the medium, volume of the medium, oxygen tension, desiccation, antiseptics, foreign proteins, products of bacterial metabolism, normal serum, homologous antibodies, products of growth, the bacteriophage and animal passage. In our own hands three procedures have been of most aid in favoring the dissociation reaction, 1) the inoculation of large volumes (1.000 cc.) of broth with subsequent aging at room temperature, 2) point inoculation on large plates of agar followed by prolonged incubation, 3) the inoculation of large volumes of broth containing homologous immune serum.

Our efforts have not always been crowned with success, however, we have not as yet failed to dissociate any one species of bacteria if a large series of strains was studied. Some one strain of the group would invariably exhibit the desired response. Patience and the choice of an adaptable strain, preferably one that has been recently isolated are essential to success. All of our failures have been associated with old laboratory strains. Growth is absolutely essential for the dissociation reaction but before proceeding to a discussion of this factor the ability to recognize a new character should it appear is not without difficulties. There are many instances of intermediate forms between two distinct variants and it frequently happens that variants when first detected become gradually more distinct as regards the appearance of their colonies, the morphology of the cells which they contain or their physiological properties, therefore, selection as well as environment takes on increased importance.

In earlier publications I have referred to growth as being essential to the dissociative reaction. Thus, at various times to study this factor the spores of B. subtilis, B. mycoides, B. megatherium and B. cereus as well as the vegetative cells have been thoroughly washed with saline or distilled water and then suspended in either of these fluids and kept at room temperature. Transfers from these suspensions to nutrient mediums with subsequent incubation and colony examination have never displayed any dissociative tendency on the part of quiescent cells or spores. The selection of this group of organisms for the investigation of the factor under consideration was believed to be judicious because bacterial instability as we have shown is commonplace on the part of the members of the spore-forming aerobic group. Naturally, similar experiments have been carried out with practically all of the members of the colon-typhoid group, as well as with other species and the results all indicate that a definite correlation exists between growth and variation.

It would seem desirable to merely present a few general considerations of the dissociative phenomenon as it occurs on laboratory mediuns with ordinary cultures. In bacteriological thought under the influence of the views of Koch there developed a conception of normal colonies and normal bacterial morphology. What did not conform to the normal was relegated to the field of contamination or degeneration as the dogma of the absolute constancy of specific bacterial types was strongly entrenched. It is now generally recognized that the dissociative reaction may affect many characters of bacteria, such as cell morphology where expression is found in the unusual length and breadth of the individual cells and the growth of bacilli or cocci in long chains or threads; the presence or cessation of motility; the presence or absence of capsules; the production of asporogenic strains from strains ordinarily sporogenic; the loss of chromogenesis,

such as the failure of strains of B. pyocyaneus to produce pyocyanin; the change in biochemical reaction as observed in the training of certain species of bacteria to ferment various carbohydrates not ordinarily attacked and the loss of this power by strains ordinarily associated with certain sugar reactions; physiological changes wherein organisms usually considered anaerobic become acclimated to increased tensions of free oxygen; the attenuation of cultures ordinarily extremely virulent, as brought out by Jenner with the vaccine virus nearly one hundred and fifty years ago; variation in serological behaviour as described over thirty years ago by Smith and Reagh; changes in immunological response following the impressed alteration of the antigen and susceptibility or resistance to bacteriophagy.

Variation has been seen to affect many species of bacteria and in those which have been carefully studied the great majority of described characters have proved liable to variation if an adaptable strain were selected. This must not be taken to imply that all characters of a well established species as just enumerated may change simultaneously or in such a way as to make it identical with those of another species. As in variation in higher organisms the observed changes as a rule have a majority of characters unaltered. There is one character in particular that has been accepted until recently as a reliable criterion of culture change for a given species and this is the form of colony on a solid culture medium.

It has been possible with patience and an adaptable strain to demonstrate colonies of three fundamental types; the smooth (S), the rough (R) and the mucoid (M) for many bacterial species. To these has since been added the minute phantom (P) type probably not frequently observed because of the difficulties of stabilization as brought out in my paper on the dissociation of B. subtilis.

The S or smooth type colonies of such species as B. subtilis, B. typhosus, B. pyocyaneus, B. welchii, and many other species are smaller than the R or rough form but vastly larger than the P form. The S colonies on agar are round, regular, convex somewhat opaque, and have smooth margins. Viewed by reflected light the surface is glistening. To most bacteriologists the S type colony is the most common type and that is perhaps why it has become established as the so-called normal. The growth in broth of the S type culture is usually homogeneous and quite stable suspensions may be prepared in salt solution for serological tests.

The organisms making up the S type culture are ordinarily shorter than those of the R colonies, they do not occur in chains nor produce filaments. Motility, if characteristic of the species, is usually limited to the S cells as in B. typhosus; and the same is true of capsulation, although

this attribute is equally as characteristic of the M, or mucoid type. Chromogenesis may appear associated with any one or all of the colony types.

Colonies of the R type are usually larger than the S. They are thinner, more spreading, and more translucent when young. The borders may be filamentous or curled as in the anthrax bacillus and tetanus bacillus. The colony surface is dull, rough, or even rugose or wrinkled as in the tubercle bacillus. Viewed with a lens by transmitted light they often give a cuneate appearance. The growth of R cultures is usually sedimentary or agglutinative, and spontaneous agglutination in salt solution suspensions is common, as in the R forms of B. subtilis, B. typhosus, B. pyocyaneus and B. welchii.

The individual R type cells are longer than the S and they often appear in chains as in B. anthracis and B. subtilis. Filaments are common and dense mycelial networks may appear as in B. welchii, B. subtilis, B. mycoides and other species. There is considerable question about motility in R cultures. If the species is capsulated the R cells do not possess them. The R pneumococcus, for example, is noncapsulated and the same is true for B. rhinoschleromatis.

The M or mucoid type colonies were early observed as variants in cultures of B. icteroides, B. paratyphosus B and many others and can be readily detected on agar by the outer zone or sometimes the whole colony becoming swollen, opalescent and glairy. The M colonies approximate the size of the S type with a tendency to be somewhat larger under similar cultural conditions. The mucoid material may become liquid so as to flow to the surrounding parts of the colony and is distinctly viscous to the touch of the platinum wire. In many instances the M colonies appear to be only a temporary modification and the cultures return to normal on subculture, or partial reversion occurs as shown by the appearance of some normal colonies. S cultures of B. pyocyaneus have frequently been observed to spontaneously change to the mucoid type this same spontaneity has been noted in cultures of the S form of the Glanders bacillus. The individual organisms from the M type colonies are usually somewhat shorter and broader than the S type and not infrequently excapsulated although this is not necessarily so.

The biochemical characters of the S, R and M cultures do not vary a great deal. In general it may be said that the smooth cultures are the most active chemically. As regards the ability of the various cultural types to invade the body this attribute has ordinarily been correlated with the S type. Unquestionably this holds true with the members of the colon-typhoid group of organisms, the Brucella group and various other species. In the Anthrax bacillus the rough strains have been found

to possess the greatest virulence and it has been alleged that this is also true of the meningococcus.

The P or phantom type has received rather intensive study in our hands. It was first observed in cultures of B. subtilis undergoing rapid dissociation but has since been observed in various strains of practically all of the species of the spore forming aerobes as well as in other species. This variant colony is about 1 mm. in diameter, very flat, colorless and practically invisibile. It is usually necessary to hold the plate so that the reflected light from the colony catches the eye. The P colonies appear to be a temporary modification and usually develops into the R type colony if growth occurs on subculturing. The colonies show the presence of organisms and considerable granular material. When isolated from species ordinarily pathogenic such as the Glanders bacillus, B. typhosus, the cholera vibrio and others, the P forms have manifested no pathogenicity when injected into animals.

It must be kept in mind, however, that all of these colony types are interconvertible, although sometimes with difficulty, thus ruling out the objection of contamination.

In the foregoing discussion only the four chief colony types that have received intensive study in my hands have been emphasized. For many species other colony forms have been observed which cannot at present be related to any of these four. We have frequently noted a colony type which is slightly smaller than the S colony, somewhat heaped up with smooth abrupt edges giving a crateriform appearance. When touched with the platinum wire these colonies retain their form and slide around on the agar surface or mai be removed *in toto*. This colony type was first observed in cultures of the Glanders bacillus undergoing dissociation and may appear in cultures of the members of the colon-typhoid groups, spore-forming aerobes and very commonly in cultures of B. pyocyaneus.

Unquestionably the considerations already presented can best be epitomized by reference to an intensive study of dissociation in B. pyocyaneus.

A culture of this organism was isolated from the urine of a patient having a gall bladder infection. The colonies on plain agar were of the typical S variety, the cells exhibited the usual morphological and tinctorial attributes and the deep blue-green pigment characteristic of this species was present. Following several serial transfers to insure purity, single cell isolation was resorted to and a pure strain recovered. Three, two liter flasks each containing 1.000 cc. of nutrient bouillon were inoculated with cells from the pure culture and subsequently incubated at room temperature for a period of two years.

At intervals of one month a loopful of the culture was removed from

each flask and spread over the surface of agar plates, after incubation the colonies that appeared were carefully studied. At the end of two months the test plates showed the presence of typical, S, R, M and P colonies in the ratio of 70: 10: 5: 15.

The experiment was terminated after two years at which time the ratio of S, R, M and P colonies was 10: 60: 22: 2 with the additional presence of 6 per cent of the crateriform colonies already alluded to.

By careful selection and subculturing pure strains of each colony type were obtained and stabilized. The morphological and cultural characteristics of the forms were typical for the colony types as previously described. The colony types were easily interconvertible, the R and crateriform type apparently being the most stable.

Over 400 serial subcultures of each type were made and in only one instance was the characteristic of pyocyanin production lost and this was associated with the M type; following the 5th subculture of this organism the heavy slimy growth seemed to be devoid of pyocyanin, however the greenish yellow fluorescin was still present. On dissociating this strain, non-chromogenic as regards the presence of pyocyanin, into the other colony types the pigment producing character was not regained, thus we had S, R, M and P colonies associated with pyocyanin and the same series without this pigment. Specific agglutinating serums were developed in rabbits by the injection of saline suspensions of the living organisms. The serological response of the serums are presented in Table 1.

TABLE 1. – *The Agglutination of the Variants of B. pyocyaneus in Homologous and Heterologous Immune Serums.*

Type of Antigen	S	R	M	P
Antiserum S	1 : 4.000*	1 : 100	0	0
» R	1 : 20	1 : 10	0	0
» M	1 : 200	1 : 40	0	0
» P	1 : 200	1 : 10	0	0

* Highest dilutions of serums at which 4 + agglutination occurred.

It was reasonable to suspect that the serological and immunological reactions of bacteria would also be related to colonial configuration and the data presented in the table demonstrate this to be true.

In the time allotted to me it will be impossible to enter into a lengthy discussion of the newly developing field of « quantitative serum analysis »,

or to more than mention the three antigenic components which in one combination or another have been found to go far in making up the antigenic composition of the species concerned. These components have been assigned the symbols H, O and R and cross reactions between H, O and R antiserum represent too large a subject to enter at this time. In a general way the reactions are unsymmetrical, sometimes qualitatively, at other times only quantitatively. It is impossible to make generalization at this time and considerable confusion exists due in no small part to the work of Arkwright wherein he has recently discarded colonial appearance for the designation S and R and now bases his identification on agglutinogenic content, stating very clearly that it may be impossible to differentiate the variants by colony appearance. With this point of view I concur, inasmuch as I have found smooth looking pneumococcus colonies to be without virulence and type specificity and on the other hand rough colonies capable of producing type specific substances and also with virulence for mice. The full significance of these considerations, as particularly brought out by the English workers, has not been fully recognized, as a result the investigators in my country associate roughness of colony with the designation R while in England this designation refers to antigenic structure. As a result uncertainty follows a reading of the literature.

There are two points in particular to which I wish to call attention in connection with those experiments. First, the lack of agglutination of suspensions of the M variants in contact with the homologous antiserum and the positive tests with M antiserum when added to suspensions of the S variants. A similar activity has been noted with reference to M dissociants of B. typhosus, B. paratyphosus A and B, B. enteritidis, B. icteroides, B. psittacosis and the Glanders bacillus but it appears to be too early to speculate on its significance. Second, the apparently inactive P antiserum, unquestionably this is to some extent associated with the minute quantities of antigen available for animal injection.

The above observations with B. pyocyaneus are now generally accepted as occurring when bacteria are cultured on laboratory medium where both environmental changes may be induced and selection resorted to. The detection of analogous variants in the body of the infected host has not been crowned with the desired success and in the remainder of the time at my disposal I shall present an example of what we believe to be *in vivo* dissociation but the detection of which of necessity was made on laboratory medium.

From an investigation carried out during the past two years, observations recorded in the laboratory have led to the recognition of microbic variation of considerable importance in the infected host. During an epidemic of bacillary dysentery, the bacterial flora of the intestinal tract

of forty three children was intensively studied. An organism belonging to the Flexner type of the dysentery bacillus was isolated from twenty-six of the individuals, eight of the infections proving fatal. From the remaining seventeen patients an organism identical in morphology with the Flexner type was obtained, with the conspicuous difference that the colony produced by this form was extremely mucoid and the cells did not agglutinate with any of the typing serums, including the patients, that were available. All of these patients recovered. However, an examination of the protocols of those who succumbed to the infection with the Flexner type showed that in four instances the mucoid type of colony was concurrently present on the diagnostic plates with colonies of the Flexner type but to a much smaller extent.

The previous laboratory studies with pure cultures suggested that here we might be dealing with an actual example of *in vivo* dissociation, subsequent studies proved this to be the case, the mucoid colony was identical with the mucoid type of B. dysenteriae, Flexner. In this particular instance with the variations in colony type there was a concomitant change of biochemical character and the mucoid variant presented the characteristic fermentative changes for B. morgani. It may, therefore, be pointed out that variation inside the animal body or in a state of nature may be greater than that observed to take place in the laboratory but as yet the variants have not been recognized.

Conclusion. — From the foregoing considerations of a pure culture study of B. pyocyaneus and the causative agent of an epidemic of dysentery it is unquestionably clear that the study of the bacteria themselves has brought to light facts which serve to place these minute forms of life in a new light. We now know that the cells of a given species do not possess a constant morphology but exist in many forms. They do not possess a constant physiological constitution and exert different biochemical behavior. They do not possess a constant antigenic constitutio but undergo distinct transformation in colloidal character. And above all what they can accomplish in producing infections, in elaborating toxic substances, in stimulating the production of immune bodies depends perhaps upon the phase of growth more fully than upon any other factor of which we possess any knowledge.

ALLARIA G. B. – **Les encèphalites post-vaccinales.**

(Rapport au IVe Congrès Italien de Microbiologie, de Milan, Octobre 1932).

La possibilité que l'inoculation du vaccin anti-varioleux donne lieu à une affection grave du système nerveux central, qui guérit quelques fois avec la « restitutio ad integrum » mais qui laisse aussi, souvent, des traces permanentes très graves, et qui très souvent aboutit à la mort a ému la conscience des pédiatres, et les rend perplexes chaque fois qu'ils doivent pratiquer l'inoculation prophylactique.

Le court rapport que je vais faire à cette assemblée particulièrement compétente a un but pratique: ce d'adresser une prière au nom de tous les pédiatres d'Italie, à nos Collègues micro-biologistes.

Je remercie cordialement le Conseil de Direction de votre Société qui m'a fourni un occasion si utile, et je adresse particulièrement à M. le Président, le Prof. Belfanti, l'expression de ma déférènte gratitude.

La constatation de l'épouvantable possibilité que j'ai rappelée, a remis en discussion tout le problème de la vaccination contre la variole, en menaçant de discréditer cette arme prophylactique si bienfaisante et en renforçant l'opposition contre son usage obligatoire. Je citerai, comme exemple, la délibération du Gouvernement Hollandais qui, en raison de la grave épidémie d'encéphalite post-vaccinales qui durait depuis 1923, abolit, en 1928, l'obligation de la vaccination Jennerienne.

Mais dans cette question qui a un si grand intérêt médical et social, il ne faut pas se laisser dominer ni détourner du but par des sentiments pas bien ponderés.

D'ailleurs, en face de la gravité des complications que le vaccin de Jenner peut produire dans le système nerveux central, il existe d'une façon permanente un autre danger bien plus grave et plus terrible!

La variole, le terrible « morbus », qui pendant des siècles a décimé épidémiquement ou endémiquement les peuples de l'Europe et qui, aujourd'hui, a presque disparu chez nous, n'a pas cessé, cependant, d'être une menace permanente pour notre Pays. Ou jourd'hui plus rapidement que dans les temps passés nous pouvons recevoir la variole par plusieurs voies terrestres ou maritimes: de la Grande Bretagne, où cette maladie est endémique (en dix ans, 1919-1928, en Angleterre et au pays de Galles on ne dénonça 30,220 cas, avec une augmentation progressive de 294 cas en 1919 à 11,970 cas en 1928); de l'Inde (où chaque année la variole fait plus de 40,000 victimes); du Nord de l'Amérique, de l'Orient en gé-

néral, soit directement soit par des voies détournées de la Yougoslavie et de la Provence.

Pour démontrer la réalité de la menace de la variole chez nous, il suffira de rappeler la mortalité impressionante qui se vérifia immédiatement après la guerre lorsque les conditions particulières du moment avaient fait négliger la vaccination (1).

L'épidémie, très grave, qui sévit en Italie pendant 3 ans, de 1919 à 1921, tua 28.777 personnes, réparties, de la façon suivante dans le 16 anciennes regions:

Piémont	49	Latium	287
Ligurie	110	Abruzzes-Molises	742
Lombardie	171	Campania	5.523
Vénétie	138	Pouilles	11.065
Emilie	26	Basilicate	1.206
Toscane	118	Calabre	1.496
Marches	44	Sicile	7.912
Ombrie	32	Sardaigne	19

L'examen de ces chiffres fait sauter aux yeux l'inégalité de diffusion de l'epidémie: avec une division marquée à peu près par le parallèle de Rome.

L'énorme différence dont s'avantage la partie septentrionale du Royaume, malgré les échanges, continuels et fréquentes, d'hommes et de marchandises avec le Sud, est due, sans doute, à la régularité très différente avec la quelle, au cours des années précédentes, on avait procédé à la vaccination et à la revaccination dans les différentes regions.

La vaccination générale, très énergique, de la population du Royaume, à la quelle les médecins, qui en étaient chargés, s'appliquèrent avec une grande abnégation, arrêta rapidement l'épouvantable épidémie.

En effet, le nombre des cas de decés, dus à la variole, fut de:

16.380	en	1919	16	en	1923
11.037	en	1920	46	en	1924
1.360	en	1921	13	en	1925
30	en	1922			

J'ai voulu rappeler, par ces quelques chiffres, l'actualité du problème de la variole, car elle constitue un élément indispensable pour jujer objectivement le problème que je vais Vous présenter.

La comparaison entre ces deux questions nous impose à tous, à chacun selon sa compétence, l'étude de l'étiologie et de la prophylaxie des encéphalites post-vaccinales, pour tranquilliser la conscience des médecins vaccinateurs et pour préserver les millions d'enfants qui chaque année sont vaccinés de ce danger très grave, bien qu'il soit très rare.

En abordant la question des encéphalopaties post-vaccinales il est utile de rappeler que *la variole peut donner lieu à des affections nerveuses très*

graves, qui sont souvent rapidement mortelles: on connait depuis très longtemps ces suites possibles de la maladie.

En ce qui concerne la fréquence des syndromes nerveux produits par la variole je citerai les chiffres suivants, extraits de la monographie de Taccone (2):

— Schamberg et Kolmer (1928): 8 cas (dont 5 mortels) sur 3000 varioleux = 2,7‰.

— Rolleston (1929): 25 cas sur 10.000 varioleux = 2,5‰.

— Troup et Hurst (1925-30): 23 morts présentant le syndrome nerveux sur 51.243 cas de variole = 0,44‰.

Les deux observations, très récentes, que je relate ci-dessous, sont intéressantes pour notre sujet:

1º) Mc. Intosh et Scharff (1928) décrivent un cas mortel dû à un syndrome nerveux chez un enfant, provoqué par une variole d'intensité moyenne: les lésions anatomiques et histologiques de l'encéphale étaient semblables à celles qu'on remarque dans l'encéphalite post-vaccinale et consistaient surtout en une infiltration parvicellulaire périvasale avec démyélination très prononcée.

2º) Troup et Weston Hurst (1930) décrivent un autre cas chez un homme de 63 ans qui n'avait jamais été vacciné et qui mourut à la suite d'une paralysie flasque inférieure avec somnolence, produite par la variole. Les altérations anatomiques et histologiques, également dans ce cas, étaient égales à celles des encéphalites post-vaccinales et étaient semblables à celles de l'encéphalomyélite disseminée qui se manifestent à la suite d'autres infections aigues (rougeole, etc.). La ressemblance était telle, que ces deux AA. se sont demandés si l'uniformité des caractères histologiques et anatomiques dans l'encéphale pour ces différentes infections, ne pouvait signifier qu'elles n'en sont pas la cause directe, mais plutôt qu'elles excitent l'activité d'un autre germe pathogène préexistant, à l'état latent, dans l'organisme.

Etant desormais admise l'identité entre le « virus » varioleux et celui du vaccin, il est possible d'admettre « a priori » que le second, tout comme le premier, lorsqu'il pénétre dans l'organisme humain, puisse se fixer dans l'axe cérébro-spinal et puisse y produire les mêmes lésions, tout en tenant compte de la profonde différence de virulence et de toxicité entre la première maladie, naturelle, et la seconde qui, au contraire, est provoquée artificiellement.

Il est hors de doute que le vaccin de Jenner, inoculé dans l'organisme humain, peut y donner lieu à des syndromes nerveux.

Les encéphalites (ou myéloencéphalites) post-vaccinales font partie du groupe, abondant et variable, d'affections nerveuses aiguës, qui se

manifestent pendant, ou comme conséquence, de beaucoup de maladies infectieuses aiguës fréquentes, surtout, chez les enfants.

Il faut les grouper avec les encéphalites de la rougeole, de la rubéole, de la scarlatine, de la coqueluche, des oreillons de la varicelle, et aussi des autres infections qui ne sont point particulières aux enfants, mais peuvent les frapper toutefois comme les adultes.

En général, les encéphalites aiguës provoquées par les infections ci-dessus sont très rares, si l'on pense à l'énorme quantité d'enfants qui chaque année sont atteints de maladies infectieuses aigues et en guérissent. Mais au cours de ces dernières années, les observations cliniques de ces syndromes nerveux, qui ont été publiées, sont devenues plus fréquentes d'où l'importance du problème de leur étiologie et de leur pathogénie. Ce problème présente de serieuses difficultés car nous ne connaissons point les agents qui causent plusieurs de ces maladies infectieuses aiguës.

La manifestation de syndromes nerveux graves provoqués par le vaccin avait été observée dès les premiers temps où l'on pratiqua la vaccination, et nous les trouvons décrits dans le traité classique que Sacco écrivit à l'époque de la République Cisalpine. Je me rappelle qu'au VIIIème Congrès Italien de Pédiatrie, qui eut lieu à Bologne en 1913, le regretté prof. Berti citait parmi les complications dues à la vaccination de Jenner: le délire, la névrite optique, les paralysies et la parésie des muscles oculaires, la paralysie du bras où avait été pratiquée l'inoculation.

Mais l'alarme a été répandue dans le monde entier surtout ces dix dernières années, après l'épidémie anglaise qui commença en 1922, après l'épidémie hollandaise qui commença en 1923 et après que Lucksch eut publié sa première communication sur les cas observés en Bohème, en 1924.

L'alarme avait été si vive et la suite des études cliniques, anatomiques et expérimentales si continue et si riche, que la Société Italienne de Pédiatrie, après la première séance sur cette question (séance qui eut lieu à Turin, à la Section piémontaise, le 23 juin 1928 ([3])), posait la « question des syndromes encéphatitiques dans l'enfance » comme thème de rapport à son dernier Congrès, le XIV ème, de Florence, en 1931.

Sour cette question, je me rapporte aux trois beaux rapports lus à ce Congres (4):

— à celui du Prof. De Toni sur l'étiopathogénie et sur l'anatomie pathologique;

— à celui du Prof. Taccone sur la clinique des formes aiguës;

— à celui du Prof. Bergamini sur la clinique des formes chroniques et des phénomènes posthumes.

Il me semble superflu de rappeler ici la suite des longues études faites dans le monde entier, cet exposé ayant été fait, dans ces rapports.

L'intérêt qui a été soulevé en Italie, comme partout ailleurs, a excité aussi chez nous à pousser les études et les publications au cours de ces dernières années.

Pour la première fois, dans un traité didactique, il a été consacré un chapître spécial à l'encéphalite post-vaccinale (5).

Je me borne ici, à rappeler que les cas observés pendant ces dernières dix années, dépassent un millier; dans le seul Royaume d'Italie, il y en a une centaine environ.

Pour diminuer la sévérité des statistiques, il faut en réalité tenir compte que plusieurs cas, qui ont été dernièrement décrits comme des cas d'encéphalite post-vaccinale, n'ont pas résisté à une critique sérieuse.

En effet, la Commission d'Hygiène de la Société des Nations a conclu, en 1928, après révision de la statistique mondiale, à l'annulation de plus de la moitié des cas décrits jusqu'alors.

De Toni, par exemple, dans une étude critique sur les 83 cas décrits par Taccone, en élimina 35, presque tous en raison d'un diagnostic incertain ou bien insoutenable.

Parmi les exemples plus récents, je citerai un cas suédois qui fut déclaré comme une encéphalite post-vaccinale et que l'on découvrit être un gliome cérébral lorsqu'on pratiqua l'autopsie (Gaz. des Hop. 1930, n. 99). Trois autres cas, tous suédois, appartenant à une statistique de 10 cas déclarés comme des encéphalites post-vaccinales (Kling, 1932), après un profond examen furent reconnus, l'un comme une méningite tuberculeuse, l'autre comme une poliomyélite ant. aigue; le troisième était une éclampsie chez un sujet spasmophile. (Les sept autres cas étaient de véritables encéphalite post-vaccinale).

J'ai pu personnellement constater un exemple très démonstratif qui me fit conclure à la nécessité d'une grande prudence et d'une grande attention avant de faire un tel diagnostic étiologique (*).

Une enfant, âgée de 13 mois, en parfaite santé, fut vaccinée dans une commune du Monferrat: le septième jour après la vaccination — la pustule vaccinale était moyenne — le sujet fut atteint de convulsions générales violentes, prolongées et répétées, qui continuèrent pendant quatre jours de suite, plusieurs fois par jour: au cours de la troisième semaine après la vaccination (du 14ème au 21ème jour) les convulsions s'atténuèrent jusqu'à disparaitre, mais il se manifesta la paralysie du membre inférieur droit. (Les parents ne surent pas me dire si l'enfant avait eut de la fièvre).

Au 21ème jour après la vaccination, je la visite et constate qu'elle est atteinte de paralysie flasque du membre inf. droit: absence des reflexes des tendons: hypothermie locale: pied bot varus: sensibilité intacte.

Au premier abord, le diagnostic d'affection nerveuse post-vaccinale

(en ce cas une myélopathie) semblait le plus probable: mais je sus, peu de temps après, qu'immédiatement après celui décrit, trois autres cas de paralysie s'étaient manifestés:

le second chez un enfant de 8 mois, pas encore vacciné: paralysie flasque presque subite au membre sup. gauche;

le troisième, chez un enfant de 15 mois: paralysie flasque des membres droits apparue pendant l'évolution de la pustule vaccinale et mort quelques jours après avec de violents symptômes infectieux:

le quatrième cas chez une enfant de deux ans (vaccinée un an avant): paralysie flasque du membre inf. droit, observée par les parents, un matin, au réveil: aucun autre symptome évident.

On peut se rendre compte facilement qu'il était question d'une épidémie de poliomyélite antérieure aiguë: c'était un épisode de l'épidémie qui sévissait cette année en Piémont et surtout dans la province d'Alexandrie.

Le fait que pour deux de ces cas la paralysie s'était manifestée pendant l'évolution de la pustule vaccinale me porta à conclure que l'infection vaccinale même, sans être directement la cause des paralysies, avait agi, peut être, comme sensibilisatrice de l'organisme vis à vis du « virus » poliomyélitique.

Dans un cas de méningo-encéphalite post-vaccinale, publié par Biondi l'année dernière, le liquide céphalo rachidien contenait des méningocoques (*).

Inversement il est probable que plusieurs cas qui furent enregistrés dans le passé comme des « méningites tuberculeuses » excitées par le vaccin, puissent avoir été de véritables encéphalites post-vaccinales.

La fréquence du diagnostic de tétanos comme complication de la vaccination de Jenner, observée par De With Serman (13 cas sur 500.000 vaccinés), la statistique de 41 cas sur 50 millions de vaccinés aux États Unis d'Amérique dans l'espace de dix ans, 1904-1913, et les 82 cas de tétanos post-vaccinal communiqués par Elgin et qui presque tous abutissaient à la mort, ont poussé Eckstein à supposer que pour la grande majorité de ces cas, il s'agissait du syndrome tétaniforme de l'encéphalite post-vaccinale.

La difficulté de porter un diagnostic certain a entrainé des mesures publiques de constatation.

En Allemagne, par exemple, un arreté ministériel ordonne a tous les médecins qui observent des syndromes nerveux aigues chez des sujets vaccinés depuis peu, de' informer immédiatement l'Institut « Robert Koch » à Berlin qui se charge de vérifier le diagnostic, même par l'autopsie (qu'est obligatoire en Allemagne): comme conséquence par exemple

resulte una statistique dont Gins rend compte, de 14 cas cliniques signalés en 1930. Le diagnostic étiologique fut éliminé cliniquement pour 9 de ses cas et pour les 5 autres l'autopsie démontra qu'il s'agissait de méningite pneumococcique, de tuberculose miliaire, de septicemie par *B. coli*, etc. Des 14 cas, en somme, aucun n'était d'origine vaccinale.

En Suède aussi, depuis 1929, la déclaration des cas de syndromes nerveux post-vacciniques est obligatoire. Le Conseil Supérieur de la Santé, à peine averti (par télégraphe, par téléphone, etc.) peut ordonner les examens nécessaires: si la situation l'exige on enverra un expert et on tâchera de procéder par l'autopsie aux recherches microbiologiques et anatomiques.

Un phénomène psychologique bien compréhensible (car il est question de maladies souvent mortelles, provoquées artificiellement par le médecin en inoculant la lymphe vaccinale) a porté plusieurs médecins à nier toute rélation entre le vaccin de Jenner et les encéphalites, et d'autres, qui n'osaient pas autant, ont tâché de se convainere et de persuader les autres que le danger était minime.

Mais le danger existe toujours, et même sérieusement: notre devoir et d'ouvrir les yeux pour découvrir les moyens de l'arrêter.

Les syndromes nerveux provoqués par la variole, toujours sérieux et très souvent mortels, n'épargnent aucun âge, et se présentent sous des aspects très variables: méningites, encéphalites, myélites, comateuses et convulsives, avec ou sans symptômes de localisations; ils éclatent au bout d'une période d'intervalle moyen, depuis le commencement de la variole jusqu'à celle du syndrome nerveux, de deux semaines ('1 à 28 jours). On observe les mêmes faits pour les syndromes post-vaccinaux.

Ces derniers ont été observés dans le monde entier avec une *fréquence* variable: quelques fois sous forme d'épidémies circonscrites, d'autres fois comme des cas isolés. Le rapport avec le nombre des sujets vaccinés est aussi très variable: voici deux exemples:

— en Suède (1924-1931): un cas sur 20.030 vaccinés (Kling) (7);

— en Hollande (1923-1930): un cas sur 4.656 vaccinés (Iitta).

Mais ces chiffres appartiennent à des pays particulièrement frappés d'épidémies d'encéphalite post-vaccinale, et ne peuvent être considérés comme termes de confront: si ils devaient correspondre à la moyenne générale, en Italie, avec un million et demi de vaccinations et de re-vaccinations chaque année, nous devrions avoir de 75 à 320 cas par an!

Aucun des deux *sexes* n'est plus particulièrement atteint.

Aucun *age* n'est épargné: les deux cas extrèmes que l'on connait sont chez un sujet de deux mois et chez un autre âgé de 70 ans. Mais dans toutes les statistiques c'est l'âge de la croissance le plus atteint;

ce fait est dû, en grande partie, à ce que c'est dans cette période de la vie que l'on pratique le plus grand nombre de vaccinations.

La grande majorité des cas appartient à la deuxième enfance et à l'âge scolaire.

Les *saisons* pendant les quelles la fréquence est plus forte sont le printemps et l'automne: ce sont les périodes où l'on pratique les vaccinations et les re-vaccinations en masse.

Soit la *première vaccination* que les *vaccinations successives* peuvent donner lieu à des syndromes nerveux tout aussi graves et aboutissant aussi facilement à la mort: les re-vaccinations produisent ces conséquences, soit que la première vaccination ait été positive soit qu'elle fut resteé négative. On a toute fois observé la plus grande part des cas d'encéphalites après la première vaccination.

On n'a pu, jusqu'à aujourd'hui, observer aucun rapport avec l'*origine* et avec la qualité de la limphe utilisée: le commun dermovaccin et le neurovaccin; lymphes dont la virulence était très variable, préparées de différentes façons et diluées avec des liquides différents; employées auparavant, dans le même lieu, pendant plusieurs années sans aucun effet fâcheux, ou bien employées en même temps chez d'autres populations sans dommages.

Comme exemple je rappellerai la lymphe préparée à Madrid, dont on se servit en Espagne pour deux millions et demi de sujets vaccinés, sans aucun inconvénient: cette lymphe transportée en 1927, en Hollande, provoqua 5 cas d'encéphalite sur 50.000 vaccinés (cité par De Toni).

La technique de l'inoculation n'a aucune importance: presque tous les cas avaient été inoculés par scarification. Il y en avait aussi parmi des sujets vaccinés par voie intra dermique.

L'intensité de la *réaction locale* des pustules n'a aucun rapport avec les suites nerveuses. Dans la grande épidémie hollandaise, chez plusieurs sujets re-vaccinés et frappés d'encéphalite, il n'y avait même pas eu de réaction au point d'inoculation.

On a quelques fois observé une *coincidence avec des épidémies* de maladies nerveuses d'autre nature: surtout avec l'encéphalite léthargique ou épidémique et avec la poliomyélite antérieure aiguë; mais cette coïncidence n'est pas constante.

La durée de l'*incubation*, depuis le jour de l'inoculation jusqu'au premier syndrome nerveux dans les cas qui furent publiés comme tels, varie entre 1 et 34 jours: pour la majorité des cas elle oscilla entre 8 et 12 jours.

Les *prodromes* furent en certains cas très courts et vagues. En général, on ne les remarque pas et, pratiquement, ils font complètement défaut; la maladie éclate subitement.

Les *symptomes* qui se manifestent le plus fréquemment au *début*: sont céphalée - vomissements - fièvre généralement élevée - obnubilation de la conscience - somnolence - étourdissement (rarement le délire).

On peut encore ajouter: trismus (d'où vient, en certains cas, le échange diagnostique de tétanos), convulsions générales (quelques fois partielles), rigidité de la nuque, Kerning myoclonie.

Ensuite le cadre clinique change rapidement: il y a des cas où il prend les caractères d'une méningite, mais généralement il tourne à l'encéphalomyélite:

symptomes des voies pyramidales (qui sont rares dans l'encéphalite léthargique): hypertonie, hémiplégie, Babinski;

symptomes spinals: paralysies flasques d'un membre ou même de plusieurs: disparition des réflexes des tendons (de la rotule, du tendon d'Achille) et de la peau (de l'abdomen), rétention de l'urine;

participation des noyaux des nerfs cérébraux: parésie des muscles oculaires, du facial, de la langue, ptosis.

Dans plusieurs cas il se produit une forte transpiration, hyperalgie, mouvements choréïformes, astasie, tremblements, dyspnée, tachypnée, respiration périodique: troubles des sphincters.

Troubles psychiques (confusion mentale, en rapport, probablement avec la forte fièvre).

L'aphasie est rare; de même la déviation conjuguée des yeux, l'hémianopsie, le nystagmus, l'anisocorie.

Cette grande variété de symptomes donne à l'encéphalite post-vaccinale un caractère protéïforme: il est nécessaire, toutefois, de se rappeler que *les symptomes les plus fréquents sont la céphalée, une apathie profonde, la somnolence, la rigidité de la nuque, le Signe de Kernig, lésions fréquentes des voies pyramidales.*

Les altérations morpholoquiques du *sang* sont celles que l'on observe au cours de l'évolution vaccinale sans complications.

Dans les *urines*, aucune altération particulière.

Le *liquide céphalo rachidien*, extrait par ponction lombaire, a souvent une forte hypertension, il possède une hyperalbuminurie et une hyperglobulinose moyenne, une hyperglycorachie variable et une augmentation modérée et variable des éléments cellulaires.

Pour donner un ordre schématique à la grande variété des syndromes cliniques des encéphalites post-vaccinales, je reproduis ici la classification proposée par Zappert et que Taccone a adoptée. Elle se fonde sur les symptômes dominants:

1° syndrome parétique-somnolent;

2° syndrome méningeale;

3° syndrome tétaniforme;
4° syndrome myelitique;
5° syndrome incomplets, abortifs et rares (neuritique et choréïques).

La *durée* de la maladie est très variable: elle va de quelques jours à plusieurs semaines: il se peut que le syndrome général cesse rapidement, tandis que certains symptomes locaux et une faiblesse générale, même psychique, se conservent pendant un laps de temps plus ou moins long.

La *mort* survient rapidement: la fréquence de la mortalité varie beaucoup selon l'endroit: le pourcentage en Italie est inférieur à 10% tandis qu'il y a des statistiques où la mortalité arrive à la moitié des cas. Le type parétique-somnolent provoque la plus grande partie des décès.

Lorsqu'on a la *guérison*, elle n'est pas toujours absolue, on peut avoir des sequelles qui affectent un sujet, soit au physique soit au point de vue pychique, pour le reste de la vie. Mais les cas qui présentent ces phénomènes tardifs sont très rares.

En voici la liste, d'après la communication de Bergamini:

— le syndrome de Parkinson caractérisé par la rigidité musculaire et une allure a scatto, très rare;

— la parésie ou paralysie d'un ou de plusieurs membres;

— les spasmes toniques et cloniques et les tremblements de type différent pendant les mouvements volontaires;

— les convulsions générales et les mouvements choréiformes;

— les altérations des réflexes des tendons.

Toutes ces conséquences peuvent disparaître lentement ou bien durer pour toujours.

Il faut encore ajouter les troubles d'*ordre psychique*: inintelligence, apathie, idiotie, excitabilité du caractère, insomnie rébelle, affaiblissement de la volonté et de la mémoire.

A propos des conséquences physiques et psychiques lointaines, il est utile de rappeler une communication de Kudelka, du Bureau d'Hygiène de la Ville de Vienne (8).

Sur les 31 cas dénoncés depuis l'année 1928 au mois de juin 1931 cet A. en trouva 27 pour lesquels l'encéphalite post-vaccinale s'était manifestée au moins trois années avant son enquête. Il en examina l'état neurologique (force motrice - sensibilité superficielle et profonde - réflexes des tendons et des pupilles - ataxie - organes des sens) et les caractéristiques intélectuelles et sentimentales.

Comme conséquences il remarqua, pour quelques cas, des réflexes exagérés: chez un seul (encéphalite du mois de mai 1931) il trouva une

parésie unilatérale de l'abducteur, dont la prognose était bonne et était probablement destinée à disparaître, à en jujer par d'autres cas pour lesquels des symptomes très graves comme l'aphasie étaient parfaitement guéris. Pour aucun de ces 27 cas l'encéphalite n'avait laissé de troubles psychiques.

Kudelka fut ainsi porté à conclure que l'encéphalite post-vaccinale est une maladie qui porte rapidement à la mort ou qui guérit sans suites.

Mais la réalité est souvent bien différente. Du point de vue psychique Mouriquand, dans son traité sur les maladies des enfants, observe que l'encéphalite post-vaccinale peut produire des altérations permanentes du système nerveux: plusieurs cas, communiqués au courant de cette année, confirment ce fait.

Bourrat décrivit (9), à la Société de Médecine de Lyon, le cas d'une fillette qu'il suivit pendant trois ans: cette enfant, agée de 9 mois avait été frappée d'encéphalite huit jours après la vaccination: depuis lors elle fut sujette à des attaques épileptiques avec altérations psychiques: impulsivité, instabilité mentale et motrice, irascibilité, sans souffrir d'un véritable affaiblissement psychique. Bourrat attribua ces phénomènes psychiques à une prédisposition héréditaire.

Un des cinq cas de Eckstein concernait un enfant qui, âgé de 8 mois avait été atteint de convulsions générales violentes et de paralysie quatre jours après l'inoculation du vaccin: le développement du sujet en fut arrêté et à l'âge de quatre ans il présentait un manque de développement corporel et de l'idiotie: apathie, mutisme, intelligence bornée.

L'*anatomie pathologique* a apporté un matériel précieux pour l'étude de notre problème mais n'a pas pû donner de réponse décisive pour l'étiopathogénie.

La plus grande partie de ce matériel vient des pays où l'encéphalite post-vaccinale est le plus fréquente et le plus grave. Je connais, en Italie, trois autopsies accompagnées de recherches histologiques: celle de Cesaris-Demel (10), de Taccone (l. c.), et celle de Manca (que j'ai personnellement étudiée au point de vue clinique) (11).

Nous savons que les encéphalites aiguës post-infectieuses chez les enfants, présentent généralement, à l'examen anatomique et microscopique, trois ordres d'altérations du système nerveux central. Les voici, schématiquement:

1° Altérations parenchymateuse dégénératives;

2° Altérations du système circulatoire;

3° Réactions inflammatoires caractéristiques.

Pour les encéphalites post-vaccinales les résultats des examens histopathologiques ne sont point identiques: on trouve surtout:

1° comme phénomène fondamental la *démyélination périvéneuse* accompagnée d'une prolifération très vive de la glie.

Cette altération, presque constante, est aussi la principale: elle se manifeste surtout dans la substance blanche: moins fréquente et moins diffuse dans la substance grise, il y a des cas où elle se trouve distribuée d'une façon égale dans les deux zônes.

La démyélination est tellement la plus prononcée des altérations que la plus grande partie des pathologistes considère l'encéphalites post-vaccinale comme de nature non inflammatoire.

2° Les phénomènes d'*infiltration cellulaire*, qui sont l'expression caractéristique d'une inflammation, manquent parfois: ils sont généralement réduits soit dans les foyers de démyélination, soit hors de ceux-ci.

L'ensemble de ces observations histo-pathologiques sur l'encéphalite post-vaccinale, ressemblent à celles qu'on remarque dans les cas d'encéphalite produits par la rougeole et sont semblables à celles qu'on fait pour la sclérose multiple aiguë et pour l'encéphalite diffuse.

Mais ce tableau histo-pathologique dont j'ai décrit le schéma et les caractéristiques les plus saillantes, ne doit pas être considéré comme constant. Il n'est pas le même pour tous les cas d'encéphalite post-vaccinale.

Même la démyélination, qui est le phénomène le plus caractéristique, ne s'est pas manifestée dans certains cas, et les altérations dégénératives se bornent, parfois, à de modestes lésions des cellules nerveuses.

Les anomalies du système circulatoire peuvent se borner, d'une façon plus ou moins prononcée, à une conjestion vasale récente avec oedème; on peut aussi avoir des lésions hémorragiques formées par des hémorragies diffuses très fines (purpura).

L'infiltration cellulaire, qui est un phénomène typique des processus inflammatoires, peut se présenter avec une intensité variable: généralement elle est peu prononcée (et manque dans certains cas): il s'agit d'infiltrations périvasculaires en manchon, plus ou moins accentuées à la périphérie, qui ne suivent point tout le vaisseau; tous les vaisseaux ne sont pas atteints.

L'infiltration n'est point suppurative: les cellules lymphoïdes en sont l'élément prédominant.

Dans le cas observé par Manca il s'agissait d'un enfant de quatre mois, vacciné au mois de mai 1931: la réaction locale avait donné lieu à une pustule, très étendue, au bras. Le syndrome nerveux se manifesta 15 jours après l'inoculation par des contractions des muscles massétères: on porta le petit malade à la Clinique avec diagnostic de tétanos provoqué par le vaccin.

Pendant les quelques heures qu'il resta à la Clinique, et qui précé-

dérent la mort, j'ai observé; cyanose, dyspnée, légér opisthotonos, contractions cloniques générales.

À l'autopsie, on observa: la pustule vaccinale avec suppuration — méningite séreuse — hyperhémie intense et oedème de la substance blanche et de la substance grise.

Les frottis avec le pus de la pustule vaccinale démontrent: de nombreux germes, surtout des staphylocoques et des streptocoques. Les cultures de l'exsudat des méninges sur gélose et en bouillon furent négatives.

Histologiquement: exsudat séreux de la leptoméninge — foyers d'infiltration cellulaire du tissu nerveux — oedème cérébral très intense. La lésion des méninges ne présentait aucune altération particulière et spécifique d'un agent etiologique déterminé (la nature tuberculeuse fut totalement éliminée). Elle se présentait comme l'expression d'un processus inflammatoir de réaction des méninges vis à vis des diverses causes toxiques ou bien infectieuses. Les lésions d'encephalite excluaient le tétanos.

Comme conclusion, il y a des pathologistes qui pensent qu'il n'existe pas de type particulier anatomo-pathologique d'encéphalites post-vaccinale qui permette de la distinguer des autres encéphalites infectieuses aiguës et d'en établir le diagnostic anatomique.

Ce que nous pouvons affirmer, d'après De Toni, c'est *que les altérations histologiques des centres nerveux dans l'encéphalite post-vaccinale sont différentes, que les lésions dégénératives sont toujours les plus accusées, tandis que les lésions inflammatoires sont réduites et il est discutable qu'elles soient primitives.*

L'encéphalite expérimentale provoquée par le vaccin a été étudiée de différentes façons: ce sont ces recherches j'espère, qui nous éclaireront sur l'étiologie et la pathogénie de l'encéphalite provoquée par le vaccin chez l'homme.

Le problème de l'étiopathogénie peut être résolu beaucoup mieux par les microbiologistes que par les neurologistes et les pédiatres.

Le nombre des communications parues ces dix dernieres années sur les recherches expérimentales qui regardent notre problème est énorme: les études ont été faites sur l'homme, et surtout sur les animaux.

Comme *animaux d'expérience*, on s'est surtout servi de la souris blanche, cobaye, lapin, veau, âne, chat, chien, et des singes de différentes espèces: « macacus rhesus », « cynomolgus », « cercopithecus callitrix », chimpanzé. Ces animaux étaient sains ou bien ils avaient été préparés en leur pratiquant des lésions à l'encéphale (injections de bouillon stérile ou d'autres substances, diathermie, ligature d'une jugulaire, ponctions lombaires répétées, etc.), ou en provoquant un affaiblissement gé-

néral (jeune, administration d'alcool, etc.) ou bien en leur enlevant la rate, etc.

On s'est servi des *matériaux d'inoculation suivants*:

— la lymphe vaccinale ordinaire (dermo-vaccin) et le *neuro vaccin* (Blanc, Levaditi, Gallardo);

— la souche de lymphe vaccinale qui avait provoqué l'encéphalite;

— la lymphe humanisée ordinaire (passages répétés sur des enfants sains);

— les cultures de lymphe prélevée des pustules vaccinales d'enfants atteints d'encéphalite;

— le sang d'enfants vaccinés depuis peu de temps (pustule en développement), sains et frappés d'encéphalite;

— le liquide céphalo rachidien d'enfants vaccinés depuis peu de temps sains et encéphalitiques;

— la matière cérébrale d'enfants morts d'encéphalite post-vaccinale, ou d'animaux inoculés de différentes façons: pulpe fraîche, ou bien conservée dans de la glycérine: seule ou mêlée à du neurovaccin;

— la lymphe vaccinale avec différentes espèces de germes pathogènes: mêlés préalablement ensemble, ou bien inoculés en même temps mais séparément, ou bien inoculés successivement: le bac. de Pfeiffer, le bac. « bipolaris », etc.: le virus de l'herpès, de la polyomyélite antérieure aiguë, de l'aphte: le tréponème de la syphilis, etc., et même un néoplasme inoculé.

Les *voies d'introduction* du virus chez les animaux sont les suivantes:

— la voie percutanée, sur peau normale ou rasée, la voie intradermique, souscutanée, intra musculaire;

— la muqueuse nasale, de la trachée, intrapulmunaire;

— la cornée;

— la voie intradurale, dans la substance cérébrale;

— la voie artérielle (carotide);

— le testicule par enrichissement (Othawara);

— le péritoine.

Les buts principaux que toutes ces recherches, très nombreuses et complexes, se proposaient, sont:

1° La recherche de l'agent causal de l'encéphalite dans l'organisme humain, pendant la maladie et « post-mortem »: ce qui veut dire la recherche du virus vaccinale dans le sang, dans le liquide céphalo rachidien et sur la surface (amygdales): « post-mortem » dans les viscères et surtout dans la substance cérébrale: dans cette dernière, éventuellement, la présence d'autres germes.

2° L'observation des caractéristiques de l'affection nerveuse pro-

voquée chez les animaux: c'est à dire l'observation clinique du syndrome, la recherche des altérations histologiques (et macroscopiques) sur l'axe cérébro-spinal des animaux morts spontanément ou sacrifiés à des périodes differentes de l'infection provoquée; en outre, la recherche du virus vaccinal dans le corps des animaux (surtout dans l'encéphale), les recherches bactériologiques et l'étude de certaine corps particuliers, microscopiques, dont la nature est encore mystérieuse, mais qu'on pense être les agents du vaccin et des complications auxquelles ce dernier donne lieu.

Sur la diffusion et la distribution du virus vaccinal dans le corps humain, et dans celui des animaux après l'inoculation cutanée, beaucoup de points obscurs ont été éclaircis.

La présence de ce virus a été demontrée chez les genisses inoculées, depuis 1906: dans le sang (Pfeiffer) et dans différents viscères: foie, rate. ganglions lymphatiques (Freyer, Schulz et Vansclow), encéphale (Ishigami).

On l'observa dans la moelle des os de singes vaccinés (Neisser) et, ensuite, dans la plus grande partie des viscères des lapins et d'autres animaux: capsules surrénales, reins, humeur aqueuse, poumons, péritoine testicules, ovaire, nerf sciatique, substance cérébrale, liquide céphalo rachidien, et même dans l'urine (12).

La recherche du virus vaccinal a été si souvent positive que les résultats négatifs de certaines expériences sont aujourd'hui attribués à la quantité trop réduite du virus inoculé ou bien à sa virulence trop faible (peut-être aussi à la proprieté, que toutes les souches du vaccin ne possèdent pas, de se fixer soit dans les tissus ecto-dermiques, soit dans ceux d'origine mésodermique [L. Cattaneo]).

La présence du virus vaccinal a été demontrée soit par le phénomène de Calmette (en inoculant dans les veines d'un lapin de la lymphe vaccinale diluée en solution physiologique, ou bien du matériel suspect, il se produit sur la peau rasée une éruption de pustules vacciniques; Calmette et Guérin, 1901) qu'on peut aussi reproduire sur des animaux d'autres espèces, soit en inoculant directement le matériel suspect (émulsionné ou même filtré) dans la peau ou dans la cornée du lapin, soit enfin en faisant précéder l'inoculation cutanée, ou dans la cornée, par celle d'enrichissement dans le testicule du lapin (méthode d'Othawara). Dans cet organe, le virus vaccinal se multiplie abondamment en provoquant une orchivaginite.

Les résultats des recherches microbiologiques expérimentales (dont quelques unes, par leur méthode d'observation, correspondent aux conditions de la vaccination dans l'espèce humaine) peuvent être transportés dans la pathologie humaine; indépendamment des études directes nous pouvons en conclure que même dans l'organisme humain, la vaccination

ordinaire de Jenner n'évolue pas comme une affection locale, limitée au point d'inoculation, mais est une véritable maladie générale.

Cette façon d'envisager la question est confirmée par le fait que l'on trouve presque constamment le virus vaccinal *dans le sang humain* pendant l'évolution de la pustule, surtout du 5eme au 14ème jour après l'inoculation (et même plus tard lorsque se produisent des complications).

Un autre fait est aussi important: sur les individus vaccinés on a remarqué la présence, pendant la pustulation, du virus vaccinal dans le mucus prélevé des amygdales et dans la sécrétion du pharynx (Gins, Eckstein): ceci explique l'angine vaccinale bien connue (qu'Orgler considérait comme une affection secondaire) qui aujourd'hui doit probablement être considérée comme une « angine de sortie » du virus vaccinal, comparable, selon Comby (13), à l'angine de sortie de la scarlatine chirurgicale.

Si bien que d'après les conceptions actuelles sur la vaccination en tant que maladie générale le vaccin généralisé (vaccinie) n'est donc que l'ensemble de manifestations multiples de l'infection générale vaccinale par excès de virulence du vaccin ou par disposition individuelle on explique aussi la formation possible de pustules spontanées, dans les surfaces eczémateuses même ci protégées contre éventualité d'une auto-inoculation.

Dans le *liquide céphalo rachidien humain*, pendant le cours normal de la vaccination, on n'a pas encore pu mettre en évidence le virus vaccinal: on l'a, au contraire, observé dans plusieurs cas d'encéphalite post-vaccinale: Aldershoff (1 cas), Gildermeister et Huter (1 cas), Turnbull et Mac Intosh (2 cas), et Eckstein, Herzberg-Kremmer et Herzberg (3 cas) (14).

Dans un des trois cas étudiés par Eckstein et par ses collaborateurs, le liquide céphalo rachidien, extrait pendant la période aiguë de l'encéphalite, inoculé directement dans le cerveau des lapins, provoqua, chez ces animaux, l'encéphalite, tandis qu'on savait que la lymphe des genisses, inoculée de même dans l'encéphale des lapins, n'avait jamais donné lieu à l'encéphalite (Levaditi, Blanc et Caminopetros, Cattaneo, etc.). Ce cas a une importance particulière pour la pathogénie de l'encéphalite post-vaccinale, car le virus du cas de Eckstein, d'après l'interprétation de cet A., aurait acquis une propriété nouvelle par le contact avec la substance cérébrale de l'enfant: étant donné que 79.000 autres portions de la même lymphe n'avaient produit aucune altération nerveuse chez les vaccinés, Eckstein en déduit que l'agent nouveau doit être recherché dans un caractère individuel de la substance nerveuse de cet enfant (facteur constitutionnel prédisposant ?).

L'encéphalite experimentale provoquée par le vaccin, a été étudiée, comme nous l'avons déjà dit, avec une telle quantité de recherches de

toutes sortes, qu'il est très difficile de résumer à cause de leur diversité et de leurs contradictions dans les résultats obtenus.

Chez les lapins, en effet — et ce sont les animaux qui ont été le plus souvent employés pour ces recherches — plusieurs AA. ont trouvé des lésions macro — et microscopiques de l'encéphale qui rappellent les lésions spontanées de l'homme: d'autres, au contraire, décrivent des altérations dégénératives ordinaires communes, sans aucune caractéristique particulière.

Ces mêmes observations doivent aussi être faites pour les examens histologiques sur l'encéphale des singes.

La pathologie expérimentale n'a pas encore pu nous donner des résultats qui puissent nous éclairer sur l'étiologie ni sur la pathogènie des encéphalites post-vaccinales.

Connaissons nous les facteurs étiologiques et pathogéniques des encéphalites post- vaccinales ?

La grande rareté avec la quelle se présentent ces terribles syndromes par rapport aux millions d'individus qui sont vaccinés chaque année, suggère une première question.

Pour la formation des encéphalites post-vaccinales n'est-il pas indispensable un facteur endogène individuel prédisposant ?: une faiblesse individuelle diathésique particulière, constitutionnelle (c'est à dire héréditaire ou germinative), ou bien un affaiblissement de la résistance organique qui se produirait pendant le développement, avant ou après la naissance ?

On connait quelques exemples de cas qui se sont répétés dans une même famille.

Deux soeurs, vaccinées respectivement en 1898 et en 1903 dans une commune de la province d'Alexandrie, souffrirent de syndromes nerveux aigus post-vaccinaux. La première, à l'âge de 10 mois, fut atteinte de convulsions du coté droite, suivies de parésie au membre sup. gauche; la seconde fut atteinte d'un syndrome comateux avec une forte fièvre, qui, fut suivie de mort en trois jours (Taccone, l. c.).

Un enfant âgé d'un an et demi (Duken, Jena, 1930) au 10ème jour après l'inoculation, tombe malade d'encéphalite (convulsions générales, fièvre élevée, incontinence de la vessie et du rectum, hémiplégie droite) mais guérit ensuite rapidement et totalement. Le père de cet enfant, lorsqu'il était agé d'un an à peu près, après la première vaccination, avait souffert de convulsions localisées (une semaine après l'inoculation, semble-t-il).

Mais en opposition avec ces deux exemples qui pourraient porter à penser à une prédisposition de famille, il y a d'autres cas, non exceptionnels de deux frères, vaccinés en même temps, avec la même lymphe, dont un seul fut frappé d'encéphalite.

Par exemple, le 1ème cas de Fiore: il est question d'une enfant de 6 ans atteinte de syndrome méningo-encéphalitique d'abord, et ensuite choreïque, à la suite de la vaccination: le petit frère, vacciné en même temps, n'eut aucun trouble nerveux (15): de même pour les deux cas de Gabriel à Vienne en 1930.

Il y a aussi des cas qui pourraient faire croire que certains enfants ayant une tendance congénitale aux convulsions, surtout pour la diathèse spasmophile, sont plus facilement atteints d'encéphalites post-vaccinales.

Dans le troisième cas observé par Eckstein, et ses collaborateurs, par exemple, l'enfant avait eu, plusieurs mois auparavant, une courte convulsion; quand il fut vacciné, il tomba malade d'encéphalite. La recherche du virus vaccinal dans le liquide cephalo rachidien fut positive.

C'est en se fondant sur ce cas que Eckstein a, tout dernièrement, émis la supposition, relatée plushaut, que la substance cérébrale de certains individus, a exceptionnellement, la propriété (constitutionnelle ?) d'exalter vis à vis du tissu nerveux lui-même, le virus vaccinal qui arrive à son contact pendant la vaccination.

Ainsi, ce virus donnerait lieu à l'encéphalite sur l'individu en question, et conserverait le caractère acquis; lorsqu'on l'inocule a un animal (lapin) il reproduirait, expérimentalement, l'encéphalite, tandis que la lymphe de la même souche, inoculée directement au lapin (lymphe animale) ou bien inoculée après passage par des enfants normaux (lymphe humanisée), ne reproduirait pas l'affection encéphalitique expérimentale.

Les sujets présentant des lésions cérébrales chroniques (congenitales ou acquises) auraient aussi une disposition individuelle. Mais, dans ce cas, il y a aussi un grand nombre d'enfants frappés d'altérations, graves et incurables, de l'encéphale et de la moelle épinière et qui ont été vaccinés sans aucune conséquence nerveuse!

Comme élément démonstratif d'une réceptivité particulière individuelle aux syndromes graves provoqués par le vaccin, on a cité le fait quelques fois, observé, d'encéphalites aiguës associées à une vaccinie généralisée.

Weichsel, par exemple, a observé le cas d'un enfant de 18 mois qui souffrit d'infection vaccinale généralisée et d'encéphalite aiguë.

Garret a signalé un cas analogue.

La pathologie expérimentale semble prouver qu'il existe une disposition organique: Douglas, Wilson et Price (cités par Cattaneo), au cours de recherches avec le neuro-vaccin de Levaditi, en vinrent à la conclusion que la diffusion dans l'animal dépend non seulement de l'origine du virus et de la quantité qu'on en a inoculé, mais aussi de la réceptivité de l'animal: cette réceptivité semble aussi dépendre de certaines races particulières des lapins.

Nous ne pouvons répondre, aujourd'hui à cette question: pour la production de l'encéphalite post-vaccinale, est il nécessaire et même indispensable une prédisposition organique individuelle (constitutionnelle héréditaire, ou bien acquise)?

Il nous est seulement possible d'affirmer qui si cette prédisposition existe (et rien nous permet de la nier) il faut la considérer comme une phase préparatoire dont l'importance est relative par rapport à celle du facteur exogène.

Quel est ce *facteur exogène*?

Les éléments pour jujer d'une façon certaine de cette partie du problème font défaut: plusieures sont les suppositions que l'on discute:

A) *Le virus vaccinal est la seule cause directe de l'encéphalite.*

En pathologie humaine, la durée de la période d'incubation, entre le moment de l'inoculation et la manifestation des premiers symptômes nerveux, varie pour la grande majorité des cas (pour les trois quarts) entre des limites étroites et bien définies: de 9 à 15 jours. C'est aussi la durée d'incubation de l'infection vaccinale généralisée: l'encephalite peut donc être considérée, selon quelques AA. et malgré que les deux syndromes soient très rarement associés, comme un phénomène de la première.

Le virus vaccinal se trouve dans le sang circulant des vaccinés, comme je l'ai déjà fait remarquer, entre le 5ème et le 14ème jours après l'inoculation.

Dans le liquide céphalo-rachidien on n'a pu démontrer la présence du virus vaccinal que pendant la manifestation du syndrome nerveux, mais jamais pendant l'évolution d'une vaccination normale: c'est un signe que la perméabilité des méninges est altérée.

Dans la pulpe cérébrale des sujets morts d'encéphalite, on a mis en évidence le virus vaccinal. Les cas pour lesquels cette recherche a été négative (fait noté dernièrement en Suède, et rapporté par Kling), s'expliquent d'après Herzberg en admettant un phénomène d'autostérilisation qui se produirait souvent, au moment de la mort: le virus vaccinal serait ainsi détruit sur place.

Tous les faits que j'ai relatés tendent à prouver qu'il existe une relation qui ne peut être une simple coïncidence mais qui doit avoir une valeur causale.

Mais l'anatomie pathologique humaine, dont la réponse, comme je l'ai fait remarquer plus haut, ne nous permet aucune conclusion sur l'étiologie ni sur la pathogénie, ne correspond point à tous ces essais: le tableau anatomo- et histopathologique dans les encéphalites post-vaccinales n'est ni constant ni caracteristique: en général il se différencie de celui qu'on

observe, en pathologie expérimentale, sur l'animal inoculé directement dans l'axe nerveux.

La pathologie expérimentale est aussi bien loin de pouvoir nous donner une réponse définitive sur cette question. Aux considérations précédentes, j'ajouterai qu'une encéphalite en 1920, avait été provoquée chez un lapin en inoculant directement le virus vaccinal dans l'encéphale, par A. Marie: cette expérience fut répétée, avec succès, par plusieurs autres AA. soit avec la lymphe ordinaire, soit après l'avoir enrichie par la méthode d'Othawara. Mais l'encéphalite ne put être reproduite par l'inoculation extra-cranienne: cutanée, artérielle ou cornéale. D'autres AA., au contraire, obtinrent des résultats positif même par cette voie d'introduction.

Cette contradiction est expliquée, en partie, par Cattaneo (16) par le fait que certains types spéciaux de vaccins (neuro-vaccins) ont la propriété de se fixer et de se développer dans les tissus d'origine mésodermique: ces vaccins, inoculés dans la peau des lapins, peuvent en pleine évolution du processus vaccinal, être mis en évidence dans l'axe cérébro-spinal par la méthode d'Othawara: mais dans la substance nerveuse on ne peut pas mettre en évidence les dermo-vaccins ordinaires qui n'ont aucune tendance à se fixer dans les tissus d'origine méso-dermique.

En parcourant la littérature, on est de suite frappé par la grande différence des résultats que beaucoup d'auteurs ont obtenus! Tout dernièrement, d'après Kling, un grand nombre d'essais faits en Suède pour produire l'encéphalite post-vaccinale chez les animaux (« macacus rhesus », « cynomolgus », « certopihecus callitrix », « chimpanzé », lapin, souris blanche) ont donné des résultats négatifs. En même temps la recherche du virus vaccinal dans la substance cérébrale d'enfants morts en Suède à la suite de syndromes nerveux post-vaccinaux, faite en inoculant des lapins, par voie cutanée ou cornéale, fut négative, comme je l'ai déjà fait remarquer.

Pour conclure, en tenant compte des resultats dont quelques uns sont inconstants, et d'autres même contradictoires, soit dans les recherches effectuées sur l'homme, soit, surtout, en pathologie expérimentale, il est trop tôt pour affirmer que le virus vaccinal soit la cause unique et directe de l'encéphalite. Même la prèsence du virus vaccinal dans le liquide céphalo-rachidien et dans la substance cérébrale d'un certain nombre d'individus atteints d'encéphalite, présence qui a souvent été démontrée, soulève encore le doute s'il est vraiment l'agent causal direct, ou bien si la présence du virus vaccinal ne doit pas être consideréé comme concomitante secondaire aux altérations ambientales de la substance nerveuse et des méninges.

D'autres interprétations spéciales ne sont pas encore appuiyées par des

preuves suffisantes: ainsi l'hypothèse d'un neurotropisme particulier de certaines souches de lymphe vaccinale est en contradiction avec ce que j'ai exposé plus haut à propos des différents effets pathologiques d'une même lymphe sur le système nerveux à des moments et en des lieux différents.

B) *La lymphe vaccinale active un germe saprophyte ou un virus latent.*

Les expériences de Levaditi et Nicolau, ont fait connaître que l'inoculation d'un virus peut favoriser la manifestation d'une maladie produite par un autre virus qui se rencontre précédemment à l'état latent dans l'organisme.

En pathologie humaine, nous avons l'exemple de la maladie de l'herpès due au virus herpétique, qui se trouve latent, dans les conditions physiologiques normales, dans l'organisme humain mais devient pathogène et provoque le syndrome caractéristique seulement lorsque l'organisme se trouve en état de prédisposition par suite d'une autre infection aiguë (pneumonie, méningite cérébro-spinale, etc.), ou par suite d'autres facteurs prédisposants.

D'après cette hypothèse, le virus vaccinal peut prédisposer le corps humain, au cours de la vaccination, à la manifestation d'une maladie produite par d'autres virus préexistants. Selon plusieurs pathologistes, microbiologistes et pédiatres, un de ces virus serait celui de l'encéphalite léthargique.

Mais beaucoup d'objections ont été opposées à cette hypothèse: la première est que la question de l'agent causal de l'encéphalite léthargique n'est pas encore bien défini; les épidémies de cette maladie n'ont presque jamais coïncide, ni comme lieu et ni comme temps, avec celles de l'encéphalite post-vaccinale.

Les caractères histo-pathologiques aussi, bien qu'ils ne soient pas toujours uniformes pour la même cause morbide et qu'ils puissent se ressembler pour des infections différentes, sont de telle nature que la grande majorité des anatomo-pathologistes sont portés à nier une affinité anatomo-pathologique et histo-anatomique entre l'encéphalite léthargique et l'encéphalite post-vaccinale.

Les mêmes observations doivent être faites à propos du virus de la poliomyélite antérieure aiguë et des autres virus neurotropes connus.

Quant à admettre l'existence d'un autre virus ignoré, il est difficile d'en expliquer l'ubiquité et la grande dispersion, bien que sur un petit nombre d'individus. On explique mal aussi la raison pour laquelle il frapperait plutôt les enfants et non personnes plus agées. En somme, aucun fait ne nous prouve son existence.

Je rappellerai ici la grande quantité d'essais qui ont été faits pour

trouver le virus du vaccin: devant une assemblée aussi compétente il me semble superflu d'en refaire l'histoire.

Parmi les recherches plus récentes je citerai; les figures microscopiques que Cesaris-Demel décrit dans la substance cérébrale d'un individu mort d'encéphalite post-vaccinale et dans l'interprétation des quelles il se tient sur une juste réserve. De même, les corpuscules ronds et ovalaires que Kling décrivit aussi dans la substance cérébrale de deux sujets morts de la même affection en 1929. Dans sa dernière communication (l. c.), il insiste encore sur la nature probable protozoaire et parasitaire de ces microorganismes et sur leur lien causal avec l'affection vaccinale de l'axe nerveux.

Je rappellerai, enfin, la communication de Eagles et Ledingham (17) sur les corpuscules que Paschen décrivit en 1906 comme de petits cocci qui sont toujours présents dans les lésions vaccinales. Les expériences d'ultrafiltration du virus vaccinal faites par Elford et Andrenes, ont démontré que la dimension du virus vaccinal est, à peu près, de 0,15 microns, semblable à celle des corpuscules de Paschen.

Eagles et Ledingham, en centrifugant le vaccin à la vitesse de 14.000 tours à la minute, obtinrent un dépôt qui contenait les corpuscules de Paschen et était très virulent tandis que le liquide, à la partie supérieure, n'était plus virulent. Le même résultat fut obtenu en lavant et en centrifugeant à nouveau le dépôt (le liquide dont on s'était servi pour le lavage était avirulent). Ce fait prouverait, d'après Eagles et Ledingham, l'action pathogène des corpuscules de Paschen (18).

L'hypothèse que les syndromes nerveux post-vacciniques dérivent d'un virus non connu, qui n'est point latent dans le corps humain, mais y est introduit avec la lymphe où il existerait à côté du virus vaccinal, est, pour le moment, sans base, car elle n'est soutenue par aucune preuve réelle. On peut même la mettre en doute, car la production des lymphes est soumise à un contrôle sévère et continu par les Instituts qui la préparent et par l'Autorité Sanitaire. Un autre fait qui nous porte à en douter, est la grande rareté avec la quella cette lymphe provoque l'encéphalite.

Il faut aussi rappeler que d'autres virus introduits volontairement dans la pustule vaccinale, ont été détruits « in sito ».

Les mêmes objections peuvent être faites à propos de la supposition que certaines lymphes contiendraient des toxines particulières qui pourraient produire les lésions de l'axe cérébro-spinal.

C) *Les lésions nerveuses qui donnent le syndrome de l'encéphalite post-vaccinale sont produites par des phénomènes allergiques.*

Ce fut Glanzmann qui formula cette hypothèse: l'intervalle moyen qui s'écoule entre le moment de l'inoculation de la lymphe et l'apparition

soudaine du syndrome nerveux, correspond au laps de temps moyen qui constituerait chez l'individu le délai de sensibilisation, après l'introduction d'un antigène.

Cette façon d'envisager le problème doit être étudiée et prise en considération: mais nous devons nous demander pour quoi, depuis plus d'un siècle qu'on vaccine, cette réaction n'aurait été remarquée avec une certaine fréquence, que depuis dix ans, et non auparavant. D'ailleurs, si c'était un phénomène immunitaire ordinaire, pourquoi est-il si rare? En outre, dans l'affection vaccinale, pourquoi l'allergie serait-elle circonscrite au système nerveux central? Pour quelle raison les autres signes communes des syndromes allergiques font-ils défaut?

L'hypothèse de Glanzmann attend encore cette démonstration.

D) *Les lesions nerveuses qui se produisent pendant la vaccination sont des phénomènes de «parallergie».*

Cette hypothèse a été formulée par Keller, par analogie avec le phénomène que Fernbach et Moro ont remarqué pour la tuberculose: il serait question d'un changement d'état allergique d'un organisme qui, *spécial* pour une certaine infection (pour ou certain antigène) qui a causé, deviendrait *générique* pour l'autres infections (pour d'autres antigènes). Ce changement, ou plutot cette extension de l'allergie pourrait, dans le cas de la vaccination, conférer à l'organisme vacciné une prédisposition à réagir aux infections surajoutées au vaccin.

La question de la «parallergie» offre trop de points obscurs pour que j'ose me prononcer à ce propos. Pour le moment, ce n'est qu'une hypothèse, la plus récente, dans le champ de la pathogénie des encéphalites post-vaccinales.

Pour conclure, nous ne savons encore rien aujourd'hui sur l'étiologie ni la pathogénie des encéphalites post vaccinales. Nous ne connaissons qu'un fait: le lien entre les encéphalites et le vaccin de Jenner n'est pas une simple coïncidence. Un rapport causal existe réellement; mais nous ne pouvons nous prononcer sur sa nature.

En ce qui concerne le *diagnostic différentiel*, je ne répeterai point ici ce que l'on peut déduire de tout ce qui a été dit plus haut, étant donné le but particulier de ce Congrès.

Le *traitement* des encéphalites post-vaccinales se ressent de notre incertitude, mieux encore de notre ignorance sur leur etiologie, ce qui nous ôte toute indication pour un traitement causal et sûr.

La sérothérapie a été tentée de différentes façons:

— avec du *sérum maternel*, en espérant qu'il contienne les anticorps utiles au traitement;

— avec du *sérum d'individus vaccinés*: il est nécessaire que la vaccination ne soit, ni trop ancienne (pour que ceux qui fournissent le sang n'aient pas encore perdu l'immunité) ni trop récente (c'est à dire qu'elle n'ait pas été pratiquée en même temps, car le sang de ces sujets n'a pas encore acquis son pouvoir spécifique contre le virus);

— avec du *sérum de convalescents* de syndromes nerveux post-vaccinaux.

Pour ces trois cas, et surtout pour le troisième, le sérum a été introduit par voie intra-rachidienne, plusieurs jours de suite, en raison de 8-10 cmc. « pro die »:

— avec du *sérum du sang de génisses vaccinées* (A. Beclère): la saignée doit être faite deux semaines (12 ou 14 jours) après l'inoculation, car à cette période le sérum est très virulicide pour le vaccin. Il faut que les genisses soient choisies après l'épreuve de la tuberculine, et soumises ensuite à l'autopsie pour eviter tous risques de tuberculose.

On a aussi pratiqué le traitement par des *ponctions lombaires répétées*, surtout dans les cas où le liquide cérébro-spinal dénote de l'hypertension.

Pour terminer ce résumé sur la sérothérapie, je rappellerai que plusieurs médecins qui l'ont appliquée, sont restés plutot sceptiques sur les effets obtenus. Nous ne possédons aucun guide scientifiquement sûr; néanmoins il est bon d'expérimenter la sérothérapie, dans une de ses trois formes, soit avec le sérum humain, soit avec le sérum de genisses (qu'il faudrait trouver dans le commerce).

La *prophylaxie* est aussi, pour la même raison, assez incertaine: on se heurte toujours à notre ignorance de la etiopathogénie.

En tous cas il, est nécessaire de continuer à vacciner à cause de la menace continuelle d'invasion de la variole, comme nous le montre l'exemple redoutable de l'épidémie italienne datant d'une douzaine d'année, et que j'ai rappelée plus haut. Il faut se souvenir que le danger de la variole est beaucoup plus à craindre que les conséquences pathologiques de la vaccination, toujours possibles, mais rares.

En temps normal, c'est bien que la vaccination soit suspendue pour les enfants qui ont une prédisposition individuelle probable aux syndromes nerveux: enfants à diathèse spasmophile et ceux qui, en général, ont une tendence aux convulsions (interrogation soigneuse des parents); enfants atteints d'affections organiques chroniques de l'encéphale (la vaccination doit aussi être suspendue pour les enfants eczémateux, à diathèse exsudative, faibles et pour les hypotrophiques en général).

La vaccination ne doit pas être faite, en masse, pendant les épidémies de poliomyélite antérieure aiguë et d'encéphalite léthargique; elle

doit être suspendue dès que se manifeste un cas d'encéphalite post-vaccinale (en ce cas, la déclaration légale doit être obligatoire).

Cette déclaration est déjà obligatoire en plusieurs états (Allemagne, Autriche, Suède, etc.).

Je rappellerai, en fin, la demande que les médecins vaccinateurs ont souvent faite: ne peut-on choisir une souche ou bien un type de lymphe déterminé, qui mette les sujets vaccinés à l'abri des redoutables syndromes nerveux?

La réponse, jusqu'à ce jour a toujours été négative: les propositions à ce sujet, sont diverses:

— continuer avec la lymphe ordinaire, mais attenuée, dont le titre (comme en Allemagne), soit constamment dosé et ne dépasse pas 1/3000;

— employer la méthode d'inoculation intra-dermique, qui rend les infections secondaires beaucoup moins probables;

— varier les substances désinfectantes dans les liquides qui servent à diluer la lymphe. En Allemagne, par exemple, au lieu de glycérine, on employe une solution d'acide phénique dans l'eau au 1:400, avec de la gélose à 2-3%;

— se servir d'un neuro-vaccin comme en Espagne, ou bien d'un vaccin cultivé par voie testiculaire, comme on l'a essayé allieurs;

— revenir au vaccin humanisé, ce que Eckstein a pratiqué à *Dusseldorf*, où, après 90 passages il n'a observé aucune complication et la lymphe s'est conservée active.

Ces propositions sont toutes des essais qui ne reposent sur aucune base sûre et ont été soumis à des critiques très logiques.

Nous ne trouverons pas, semble-t-il, de moyen pour prévenir les encéphalites post-vaccinales, jusqu'à ce que nous ayons trouvé la cause même de cette affection. Ce problème se présente sous un jour très difficile et peut être résolu par les microbiologistes, plutôt que par les pédiatres et les neurologistes.

C'est donc aux microbiologistes que nous, les pédiatres, émus et inquiets des conséquences éventuelles très graves de la vaccination jennérienne que nous sommes chargés de pratiquer, nous adressons. Nous sommes sûrs que par leurs études et leurs recherches ils pourront nous aider en trouvant la solution de ce problème qui est pour nous, une source de graves inquiétudes.

BIBLIOGRAPHIE.

(1) *G. B. Allaria*, « L'estensione attuale del vajolo e la vaccinazione ». La Pediatria d. Med. Prat., 1931, n. 7.

(2) *G. Taccone*, « Sindromi nervose in soggetti di recente vaccinati ». La Pediatria d. Med. Prat., 1931-IX. On y trouve une bibliographie très riche sur 250 cas italiens, à peuprès.

(3) Cfr. le verbal de la séance à: La Pediatria del Med. Prat., 1928-VI, Juillet.
(4) *De Toni, Taccone, Bergamini,* « Le sindromi encefalitiche nell'infanzia ». Actes du XIVème Congrès Italien de Pédiatrie, à Florence, 1931-IX.
(5) *Georg Peritz,* « Die Nervenkrankheiten des kinderalters ». Fischer, Leipzig, 1932.
(6) *De Toni,* « Note statist. epidemiol. sulle encefalopatie acute nell'infanzia ». La Pediatria del Med. Prat., 1931, page 551.
(7) *G. B. Allaria,* « Sindromi nervose post-vacciniche ». La Pediatria del Med. Prat., 1928-VI, Juillet.
(8) *L. G. Biondi,* « Su un caso di meningo encefalite post-vacc. ». Rivista Sanitaria Siciliana, 1931, n. 7.
(9) *C. Kling,* « Expériences récentes faites en Suède sur l'encéphalite post-vaccinale ». Acta paediatrica, vol. XIII, 1932, page 274.
(10) *O. Kudelka,* « Nachuntersuchung von 27 Fällen postvakzinaler Enzephalitis ». Münchener Med. Woch., 1932, n. 10.
(11) *Bourrat,* « Séquelles d'une encéphalite post-vaccinale ». Presse Méd., 1932, page 424.
(12) *Cesaris-Demel,* Pathologica, 1932-X.
(13) *C. Manca,* « Reperti anatomo-patol. su un caso di meningo-encefalite in un bambino di recente vaccinato ». Boll. della Soc. Italiana di Pediatria, 1932-X, fasc. 5ème.
(14) Cfr. la littérature à ce sujet à: *Cattaneo L.,* « Sulla diffusione del virus vaccinico nell'organismo del coniglio ». Ache. ital. d'amat. e istol. patol., 1931, n. 4.
(15) *I. Comby,* « L'encéphalite vaccinale ». Arch. de Méd. des enfants, 1932, n. 8.
(16) *A. Eckstein, F. Sioli, H. Herzberg-Kremmer* u. *Kurt Herzberg,* « Weitere Beobachtungen und Untersuchungen über die Enzephalitis post-vaccinationem ». Klin. Wochenschr., 1932, n. 25, page 1053.
(17) *G. Fiore,* « Encefalomieliti e vaccinazione ». Écrits médicaux dédiés à C. Comba, Florence, 1929, a. VIII.
(18) *L. Cattaneo,* « Sulla diffusione del virus vaccinico al sistema nervoso centrale dopo l'inoculazione sulla cute ». Riforma Med., 1930, n. 21.
(19) *Eagles et Ledingham,* « Le vaccin et les corpuscules de Paschen: expériences d'inoculation avec les filtrats centrifugés du virus ». The Lancet, vol. 223, n. 5668, 10 Avril 1932.
(20) Voir sur la filtrabilité: *L. Cattaneo,* « Contrib. allo studio sulle condizioni di filtrabilità del virus vaccinico ». Boll. della Soc. Med. di Pavia, 1928-VI, fasc. 6.

LATTES L. – **Contribution au diagnostic de l'individu par l'examen des traces de salive.**

Cette note concerne un cas criminel très important — le premier à ma connaissance — dans lequel on a réllement employé dans un but judiciaire, l'identification du groupe sanguin sur les bouts de cigarette et en général sur le traces de salive, ce qui a été étudié, jusqu'ici, seulement au point de vue expérimental.

Il s'agit d'un cas d'homicide par suffocation, dans lequel on a dû examiner plusieurs corps de délit tachés de sang, appartenant à la victime aussi bien qu'à l'accusé chargé de très graves présomptions.

La suffocation avait déterminé des abrasions hémorragiques, en partie évidemment nettoyées du sang; on trouva des traces de sang sur les draps et sur les essuie-mains de la chambre de la victime, et d'autres taches de sang sur un mouchoir saisi chez l'accusé. Je ne m'arrête pas sur ces taches, dont l'examen a été fait d'une façon peu différente de l'habituelle, dont j'ai parlé en d'autres de mes notes, mais où l'on a eu recours toutefois largement au titrage quantitatif pendant les procédés d'absorption.

Schiff et Busatto, c'est une donnée scientifique désormais assurée que les substances groupe spécifiques (base du groupe sanguin) passent dans la salive. Asada, Schiff, Kan Itiosida ont affirmé qu'on pouvait les retrouver même en de très petites quantités: elles ont été identifiées par ces AA. dans le bord gommé d'enveloppes fermées par lèchement, et par Haraguti et Kan Itiosida justement sur des cigarettes fumées (expérimentales).

« Il s'agit sans doute d'une recherche très délicate: mais grâce aux longues études que j'ai faites à propos des propriétés groupe-spécifiques et à la disponibilité que j'ai acquise des réactifs et des techniques nécessaires pour atteindre le but, j'ai cru d'être à même de faire cette recherche avec la rigueur de méthode et d'évaluation nécessaires aux fins de justice.

« Il est inutile de souligner combien vivement j'ai senti la responsabilité d'une recherche si délicate, si nouvelle et si importante: j'ai de même senti le devoir de m'entourer de toutes les précautions possibles dans l'exécution des épreuves, aussi bien que de la prudence et de l'objectivité les plus grandes dans les conclusions. Il ne s'agit pas ici d'expériences scientifiques plus ou moins brillantes où l'enthousiasme du savant peut parfois l'emporter sur la simple appréciation des faits; il ne s'agit pas ici du sort de lapins ou de cobayes, mais de celui d'un homme écrasé sous le poids d'une terrible accusation.

« Et puisque, comme on le verra, les épreuves que j'ai faites ont fourni un indice très sérieux à charge de l'accusé, je désire, dès maintenant, affirmer encore que, comme d'habitude, mon travail n'a été guidé par aucune prévention, par aucun préjugé, ce qui d'ailleurs aurait été absolument injustifié. Pourtant, étant donnée la clarté des résultats, je n'ai pas voulu m'abriter derrière des doutes « à priori », en évitant ainsi toute conclusion positive; mais j'ai pensé que c'était un courage nécessaire que d'aboutir à des conclusion formelles, dans la limite permise par les résultats.

« Ceci dit, je passe à décrire le plan général des recherches.

« Le principe sur lequel elles se basent, est le suivant: la salive (fluide et desséchée) contient en général les agglutinogènes groupe-spécifiques, correspondants à ceux du sang du même individu. Nous avons donc, suivant le groupe sanguin, des salives qui contiennent l'agglutinogène A, ou bien celui B, ou tous les deux (A + B), ou encore aucun des deux (O). On ne peut déceler directement cet agglutinogène dissous, mais cela est possible de le faire par voie indirecte. Sa propriété fondamentale est celle de se lier à l'iso-agglutinine homologue, contenue dans des sérums humains déterminés (anti-A et anti-B), de manière à en atténuer ou à en annuller l'activité spécifique, vis-à-vis des globules rouges frais, pris comme réactifs. La très petite quantité d'agglutinogène destinée éventuellement à entrer en réaction, nous oblige à disposer l'épreuve quantitativement, car une

simple épreuve qualitative pourrait ne pas donner des résultats évidents. Il faut encore de nombreuses recherches préliminaires pour voir quels sont les rapports convenables qui doivent intervenir entre les différents réactifs pour que les résultats ressortent nettement.

« Voici donc le procédé.

« On choisit un sérum-échantillon contenant les deux agglutinines anti-A et anti-B et deux sortes de globules rouges échantillons A et B. On essaie le sérum sur les globules mêmes et on l'équilibre de façon à ce que son titre soit presque égal pour A et pour B. Dans ce but, on mélange un sérum anti-A avec un sérum anti-B dans des proportions appropriées, ou bien on corrige un sérum anti-A — anti-B (groupe O) avec un sérum A ou B, de façon à égaliser le titre des deux agglutinines. On établit une dilution convenable, telle qu'elle corresponde à un seizième environ du titre définitif; si, par exemple, le titre est 64 (dilution limite 1:64 où l'agglutination est encore visible) on emploie une dilution à 1:4.

« Dans ce sérum ainsi dilué et dans la plus petite quantité possible, on fait macérer le matériel dans lequel on cherche l'agglutinogène et au bout d'un délai suffisant on y titre les propriétés d'agglutination restantes. Pour le titrage de chaque agglutinine il faut employer 0,05 cmc. au moins; si l'on doit titrer deux agglutinines, il faudra naturellement retrouver 0,1 cmc. Or, comme il est impossible de récupérer tout le sérum, il faut en mettre un peu plus, en proportion différente, suivant le matériel absorbant.

« Des expériences préliminaires ont montré que pour un cm. de longueur du tube de papier de cigarette, il faut employer 0,15 cmc. de sérum; pour un cm. de longueur du tabac de cigarette, il en faut 0,25 cmc.

« On a en effet institué des épreuves séparées pour le papier du bout de cigarette (coupé sur une longueur d'un cm.) et pour le tabac qui y était contenu.

« On a placé dans de petits tubes ce matériel un peu subdivisé, dans les quantités de sérum indiquées ci-dessus et le tout a été gardé à 0° pendant 6 à 12 heures. Après cela on a prélevé le sérum qui a été éventuellement clarifié par centrifugation. Pour chaque échantillon on a titré les agglutinines anti-A et anti-B par rapport aux globules échantillons fixes A et B, suivant la méthode préconisée par le « Bureau de standardisation des sérums » de la Société des Nations. On a indiqué comme titre du sérum la dernière dilution où l'on pouvait déceler encore, à l'*examen microscopique*, des traces d'agglutination. Naturellement, avant de mettre en oeuvre les bouts de cigarettes saisis, j'ai pratiqué des investigations préliminaires en utilisant différentes cigarettes, non fumées, ou fumées à l'aide du portecigares, ou normalement fumées par des individus appartenant à des groupes sanguins déterminés.

Il est intéressant d'indiquer les conclusions de ces examens, pour l'appréciation de ce cas.

On détermina d'abord le groupe sanguin de la victime (par prélèvement à l'autopsie) et de l'accusé, par l'examen indépendant de son sérum et de ses globules. La victime appartenait au groupe O (anti-A; anti-B); l'accusé au groupe B (anti-A).

On fit (un mois environ après le crime), les suivantes observations sur les corps de délit (après l'examen générique et spécifique du sang):

1) Sur les draps de la victime, de faibles taches estompées, très solubles. La méthode microscopique directe (Lattes) pour la recherche des agglutinines ne donne pas de résultats. La méthode d'absorption, avec titrage des sérums échantillons anti-A et anti-B montre un titre sans modifications après l'absorption.

Diagnostic de probabilité (non de certitude) = groupe O.

2) Sur les essuie-mains de la victime, des taches denses, petites, mais en grande partie croûteuses, très solubles.

La méthode microscopique directe (LATTES) pour la recherche des agglutinines, fait ressortir avec la plus nette évidence, les agglutinines anti-A et anti-B. Le contrôle avec les globules O est négatif.

L'épreuve d'absorption quantitative, montre une *augmentation* du titre des sérums échantillons anti-A et anti-B (due à la dissolution de la tache), c'est-à-dire elle ne montre aucune absorption.

Diagnostic de certitude = groupe O.

3) Sur le mouchoir saisi à l'accusé (qui assure s'être pansé une petite coupure au visage, due au rasoir: la disposition des taches appuie cette version), on trouve des résidus de savon desséché, mélangés à des bouts de poils de barbe rasée. Les taches de sang sont assez abondantes et pour la plupart denses et imprégnées.

La méthode microscopique directe montre la présence de l'agglutinine anti-A d'une manière très nette, mais non de l'agglutinine anti-B. L'épreuve d'absorption quantitative montre un abaissement de 40 à 10 du titre de l'anti-B et un abaissement insignifiant (dans la limite d'erreur possible) de l'anti-A.

Diagnostic de certitude = groupe B.

Le sang des draps et des essuie-mains correspond donc à celui de la victime et ne peut, par conséquent, donner aucun indice sur l'auteur du crime. Le mouchoir présente des taches de sang qui correspondent à celui de l'accusé et, par d'autres éléments, il appuie la version donnée par celui-ci. Ce corps de délit, non plus, ne peut être mis en valeur pour le procès.

Mais, d'après les données de l'instruction, l'assassin avait laissé sur le lieu du crime, des traces de son individualité qui pouvaient servir à une identification biologique médico-légale, et précisément des bouts de cigarettes fumées.

En ce qui concerne celles-ci, qui ont constitué la partie essentielle des recherches, je transcris textuellement le paragraphe de mon expertise, d'où ressortent la manière dont le problème judiciaire a été posé et les données techniques et doctrinales qui amenèrent à sa solution.

« Dans la première descente qu'on fit dans la chambre de la victime, l'attention fut attirée par deux bouts de cigarettes trouvés sur la cheminée, l'un près de l'autre: tout près il y avait des résidus de cendre.

« Ces restes de cigarettes furent soigneusement examinés; ils étaient du type « macédoine » commun et il en restait un morceau non brûlé, d'une longueur de 2 ½ pour l'une et de 3 cm., pour l'autre.

« Il apparaissait clairement que les cigarettes avaient été fumées directement aux lèvres, sans intermédiaire de fume-cigarettes.

« Un troisième bout du même type « macédoine », de la longueur d'un cm. et demi, qui paraissait, lui-aussi, fumé directement, se trouvait par terre près du poêle mélangé aux résidus de cendre et de charbon qui se trouvaient là.

« L'intérêt judiciaire de ces cigarettes est évident. La disposition des deux premières, placées sur la cheminée avec tout près et presque adhérente une bonne partie de la cendre de la partie brûlée, dans une chambre tenue avec un soin méticuleux et avec propreté, donnait tout de suite l'impression que ces deux cigarettes avaient été fumées aussitôt avant le meurtre, en matérialisant presque le tableau d'un conversation tranquille devant la fenêtre. Au contraire la troisième cigarette jetée dans la cendre, ne provoquait aucunement l'idée qu'elle avait été fumée depuis peu.

« Or, lorsqu'on pense que, suivant les actes, il résulte que la victime n'avait pas l'habitude de fumer et que l'accusé se déclare fumeur de pipe seulement, qu'il remplirait d'un mélange de tabac de chique de cigarette et de camomille (mélange qu'il livra à son premier interrogatoire au bureau de police, et dont on saisit une seconde dose chez lui) on ne peut négliger l'importance générique de cette trouvaille.

« Mais en dehors de cet intérêt générique, j'ai pensé qu'on pouvait éventuellement y pratiquer des recherches d'expertise médico-légales de la plus grande importance comme élément d'identification de l'assassin, et précisément *la recherche du groupe sanguin dans les traces de salive laissées sur le bout de cigarette* pendant qu'on la fumait et la comparaison avec les groupes sanguins de la victime et de l'accusé.

« D'après les travaux de Yamakami, Lehrs, Putkonen, Cuboni,

Je reproduis ici une de ces épreuves pratiquées sur des individus connus (absorption avec le seul papier):

Titre	Anti-A	Anti-B
1) Sérum non absorbé (dilué 1 : 2)	16	16
2) Sérum absorbé par la cigarette non fumée	16	16
3) Sérum absorbé par la cigarette fumée au porte-cigares	16	16
4) Sérum absorbé par la cigarette fumée par un individu O (L. L.)	16	16
5) Sérum absorbé par la cigarette fumée par un individu A (C. C.)	16	16
6) Sérum absorbé par la cigarette fumée par un individu B (G. E.)	16	absent
7) Sérum absorbé par la cigarette fumée par un individu A B (Ag. A)	absent	absent

« De cette épreuve, il ressort que l'absorption s'est réalisée d'une façon tout à fait spécifique pour les individus B et A B; elle a manqué, ainsi qu'on pouvait l'imaginer, pour l'individu O; et contrairement à toute prévision, elle a manqué aussi pour l'individu A.

« Il est donc confirmé que dans le papier du bout de cigarette on peut identifier l'agglutinogène A ou B. Le résultat positif est très net. L'individu O n'a pas donné lieu à l'absorption; mais il est évident que ce résultat négatif ne permettrait pas d'identifier un individu O, puisqu'un individu A nous a donné un résultat pareillement négatif.

Le résultat négatif ne peut jamais surprendre, car il peut être toujours lié à la petite quantité de salive sur le bout de la cigarette, de sorte qu'on ne peut l'utiliser pour en tirer des conclusions.

« J'ai voulu cependant vérifier si le manque d'absorption de la part de l'individu A dépendait de raisons contingentes ou intrinsèquement biologiques. C'est pourquoi j'ai examiné plusieurs cigarettes fumées par le même individu, même avec une salivation volontairement abondante, en comparaison de celles fumées par un autre individu A; j'ai étendu mon investigation à la salive même (0,1 cmc.) desséchée à froid, dans le même petit tube où l'on pratiquait la réaction.

Titre	Anti-A	Anti-B
1) Sérum non absorbé (dilut.: 1 : 4)	128	64
2) Sérum absorbé par la cigarette fumée à l'aide du porte-cigare	128	64
3) Sérum absorbé par la cigarette provenant du 1.er individu A (C. C.)	128	64
4) Sérum absorbé par la cigarette provenant du 2.ème individu A (Bu. G.)	absent à 16	64
5) Sérum absorbé par la salive (cmc. 0,1) du 1er individu A (C. C.)	64	64

« On voit donc qu'un deuxième individu A, a donné une absorption spécifique très nette; tandis que dans le premier individu l'absorption n'a pas lieu (ou dans une proportion négligeable), même avec une quantité notable de salive.

Cela montre que pas tous les individus, bien qu'ils contienent dans leur sang des agglutinogènes, éliminent ces derniers par la salive (1).

(1) Ce fait a été observé aussi par *Putkonen*, *Hirszfeld* et *Amzel* (« Deutsch. Zeitschr. ger. Med. » 19, 139, 932) et il est étrange que d'autres AA. qui ont étudié systématiquement la salive ne l'aient pas remarqué.

Les raisons de ce phénomène nous échappent; mais nous pouvons en tirer une conclusion importante, c'est-à-dire que *l'épreuve est valable lorqu'elle est positive; elle ne l'est pas* (c'est-à-dire elle ne sert pas a identifier l'individu O) *lorsqu'elle est négative.*

Après avoir avéré la valeur de l'épreuve en général et en avoir fixé les modalités, j'ai traité en trois temps différents et avec les contrôles nécessaires, les trois cigarettes qu'on avait saisies comme corps de délit; elles étaient indiquées comme suit: X_1 et X_3 celles qu'on avait trouvées sur la cheminée, et X_2 celle qu'on avait retrouvée par terre.

« Voici le résultat des épreuves relatives:

I. Titre............	Anti-A	Anti-B
1) Sérum non absorbé (1 : 4)	128	64
2) Sérum absorbé par le papier de cigarette fumée par l'individu O (L. L.)	128	64
3) Sérum absorbé par le papier de cigarette fumée par l'individu A (Bu. G.)	négatif à 16	64
4) Sérum absorbé par le papier de cigarette fumée par l'individu B (G. E.)	128	négatif à 16
5) Sérum absorbé par le papier de cigarette X_1	128	16
6) Sérum absorbé par le tabac de cigarette X_1	128	négatif à 16

II. Titre............	Anti-A	Anti-B
1) Sérum non absorbé (1 : 4)	128	64
2) Sérum absorbé par le papier de cigarette fumée par l'individu O (L. L.)	128	64
3) Sérum absorbé par le tabac de cigarette fumée par l'individu O (L. L.)	128	32
4) Sérum absorbé par le papier de cigarette fumée par l'individu B (G. E.)	127	négatif à 16
5) Sérum absorbé par le tabac de cigarette fumée par l'individu B (G. E.)	64	négatif à 16
6) Sérum absorbé par le papier de cigarette X_2	négatif à 16	16 (négatif à 32)
7) Sérum absorbé par le tabac de cigarette X_2	128	64

III. Titre............	Anti-A	Anti-B
1) Sérum non absorbé (dil. 1 : 3)	48	48
2) Sérum absorbé par le papier de cigarette par l'individu O (L. L.)	48	48
3) Sérum absorbé par le papier de cigarette de l'accusé (B)	48	négatif à 12
4) Sérum absorbé par le tabac de cigarette de l'accusé (B)	48	douteux à 12
5) Sérum absorbé par le papier de cigarette X_3	48	négatif à 12
6) Sérum absorbé par le tabac de cigarette X_3	48	12

« Avant d'arriver aux conclusions, je dois donner quelques renseignements sur les épreuves ci-dessus.

« Le titrage a été fait dans une série de petits tubes où l'on avait versé préalablement 0,05 cmc. de solution physiologique pour chacun; dans le premier on a mis, ensuite, 0,05 cmc. de sérum; on a mélangé, puis exactement prélevé 0,05 cmc. du mélange, que l'on a porté dans le tube suivant, et ainsi de suite.

Ainsi, dans les épreuves Ière et IIème, où l'on était parti du sérum déjà dilué à 1:4, la série des tubes contenait les dilutions suivantes:

1 : 8; 1 : 16; 1 : 32; 1 : 64; 1 : 128.

« Dans chaque tube, l'on ajoutait 0,05 cmc. de la suspension globulaire appropriée (A ou B), de façon que la dilution était doublée; on avait ainsi:

1 : 16; 1 : 32; 1: 64; 1 : 128; 1 : 256.

Par conséquent, lorsqu'on trouve dans les tableaux l'indication: *négatif* à 16, cela signifie que l'agglutination faissait défaut dès le premier tube.

« Pour l'épreuve IIIième on est parti du sérum dilué à 1:3, de sorte que la série des dilutions finales était la suivante:

1 : 12; 1 : 24; 1 : 48; 1: 96; 1 : 192.

« Je remarque que les épreuves exécutées avec le sérum absorbé par le tabac n'ont pas toujours eu un résultat bien net, car le sérum même extrait fortement du tabac certaines substances et il résulte fortement coloré en jaune-brunâtre. Ceci provoque surtout dans les concentrations les plus élevées (1:12 à 1:32), de sérieuses altérations hémolytiques des globules rouges échantillons, lesquelles dérangent considérablement la lecture des préparations.

En outre, il est évident que les résultats se rapportant au tabac ne doivent pas nécessairement se superposer aux résultats concernant le papier; en effet, suivant la façon dont la cigarette a été fumée, il peut arriver que le papier seulement et non pas le tabac soit en contact avec la salive.

« Ainsi, quoique les résultats concernant le tabac soient apparus pourtant utilisables, on pourrait même ne pas en vouloir tenir compte.

« Mais les épreuves pratiquées sur le papier des bouts de cigarette n'ont présenté aucun de ces inconvénients, car le sérum récupéré après absorption était parfaitement limpide et incolore.

« Je dois affirmer que les résultats ont été parfaitement nets, appuyés par les contrôles nécessaires ainsi qu'il apparaît sur les photos exécutées. Ces dernières nous montrent la base objective des jugements formulés, qu'on peut résumer comme suit:

« L'examen des cigarettes X_1 et X_3 (trouvées sur la cheminée) a décelé la présence d'une substance inhibitoire spécifique pour l'iso-agglutinine anti-B; cette substance doit donc être identifiée avec l'agglutinogène B.

« Dans la cigarette X_2 on a constaté la présence d'une substance inhibitoire spécifique pour l'iso-agglutinine anti-A, et un peu moins nettement spécifique pour l'anti-B.

« Il paraît donc que les cigarettes X_1 et X_3 ont été fumées par un individu différent de celui qui a fumé la X_2, et précisément; le premier résulte appartenir au groupe sanguin B, tandis qu'en ce qui concerne le second, certainement porteur de l'agglutinogène A, on peut douter s'il appartiene au groupe sanguin A ou au groupe A B.

« La gravité du résultat concernant les cigarettes X_1 et X_3 — celles qui apparaissent récemment fumées — consiste en ce que le groupe sanguin identifié chez le fumeur est tout à fait différent du groupe sanguin avéré chez la victime (groupe O), tandis qu'il coïncide parfaitement avec celui de l'accusé.

« Il est nécessaire de fixer la valeur de cette coïncidence.

« Si toutes les cigarettes étaient apparues fumées par un individu A (c'est-à-dire, si elles avaient été semblables à la cigarette X_2) on aurait dû exclure que l'accusé pût les avoir fumées, de la même façon qu'on peut exclure que la victime ait fumé les trois cigarettes.

« La coïncidence de groupe ne permet aucunement de formuler décidément une conclusion opposée, d'après laquelle l'accusé *serait nécessairement le fumeur*. Il résulte seulement qu'*il peut avoir été le fumeur*.

« Cependant, si nous voulons apprécier numériquement la valeur de probabilité de la coïncidence de groupe, nous devons faire quelques considérations statistiques élémentaires.

« Comme l'on sait, les quatre groupes sanguins se trouvent dans la population en des proportions très différentes et caractéristiques pour chaque race.

« Dans la population de l'Italie Septentrionale et Centrale on a la répartition suivante (11.227 individus, *Lattes*, 1932):

groupe O	groupe A	groupe B	groupe A B
42,0	43,4	10,6	4,0

« Les individus B constituent donc seulement environ un dixième de la population totale, tandis que les individus A sont un peu moins de la moitié. Il est donc évident que la coïncidence dans le groupe B,qui est rare, a une valeur indiciaire plus grande que celle qu'aurait la coïncidence dans le groupe A qui est plus fréquent. Et précisément il est *quatre fois moins probable* que dans un même procès soient impliqués deux individus B distincts, que deux individus A.

« Nos examens et nos considérations numériques nous amènent jusqu'à ce point et non pas au delà; il n'est pas possible d'en forcer plus loin la signification.

« En résumé:

1) Les deux cigarettes trouvées sur la cheminée, dans la chambre de la victime ont été fumées par un individu appartenant au groupe B.

La troisième cigarette, trouvée par terre, a été fumée par un autre individu.

2) L'accusé appartient au groupe B. Il peut donc avoir fumé lui-même les deux cigarettes; mais il n'est pas permis d'*affirmer* qu'il les ait vraiment fumées.

3) Le degré de probabilité que l'accusé ait été vraiment le fumeur, ressort du fait que le groupe B constitue seulement la dixième partie de la population totale.

4) Il faut exclure absolument que les trois cigarettes aient été fumées par la victime ».

BIBLIOGRAPHIE

Asada, « Détermination du groupe sanguin par les traces de salive laissés sur l'enveloppe ». Hanzaigaku Zasshi, 3, 112, 1930.

Cuboni, « Sul potere anti-iso-emoagglutinante specifico della saliva ». Boll. Ist. Sierot., 7, 1, 1928.

Haraguti, « Individual discrimination of blood group from a used-cigarette-end and a used tooth-pick ». Bulteno Jurmed. Inst. Nagasaki, 1, 45, 1929.

Kan Ityosida, « A simple method of blood-group determination with non blood containing substances ». Bulteno Jurmed. Inst. Nagasaki, 2, 6, 1930.

Lehrs, « Ueber gruppenspezifische Eigenschaften des menschlichen Speichels ». Zeits. Immun-forsch., 66, 175, 1930.

Putkonen, « Ueber die gruppenspefizischen Eigenschaften verschiedener Körperflussigkeiten ». Acta Soc. Med. Fennic. Duodecim., 14 A, 2, 1930.

Schiff, « Ueber die gruppenspezifischen Substanzen des menschlichen Körpers ». Habilit. Schrift. G. Fischer, 1931.

Yamakami, Hokkaido med. J., 2, 111-213, 1924.

P.S. – Le travail suivant a paru après la rédaction de mon expertise:

Busatto, « La diagnosi individuale di gruppo nelle macchie di saliva ». Arch. di Antrop. Crim. e Med. Leg., 52, 265, 1932.

LATTES L. – **Premières recherches italiennes sur les antigènes individuels " M " et " N ". – I. Sur la préparation des antisérums groupe-spécifiques anti-M et anti-N.**

C'est à LANDSTEINER et LEVINE que l'on doit la découverte de nouvelles propriétés groupe-spécifiques du sang humain, tout à fait distinctes et indépendantes des agglutinogènes du groupe A et B, désormais classiques. Ceux-ci sont caractérisés par le fait qu'il existe normalement dans le plasma humain les anticorps respectifs anti-A et anti-B, à qui appartient la dénomination d'anticorps naturels. Leur identification est donc facilement réalisée par l'action d'iso-antisérums normaux humains. Il n'est besoin d'aucune préparation immunitaire des réactifs diagnostiques, puisque le prélèvement du sérum d'individus opportunément choisis est suffisant.

Il en est autrement des antigènes globulaires récemment découverts et que les Auteurs ont appelés respectivement M et N. Ces antigènes n'ont pas d'anticorps naturels correspondants: c'est pourquoi soit leur première découverte, soit leur démonstration systématique ultérieure ont dû s'appuyer sur des procédés immunitaires.

Ces antigènes sont mis en évidence par des immuno-sérum de lapin, préparés selon les méthodes usuelles d'injection parentérale de globules rouges humains convenablement choisis.

En procédant de cette façon, on obtient des antisérums où l'activité antihumaine générique masque celle strictement groupe-spécifique. C'est-à-dire que si un lapin a été injecté avec des globules humains contenant l'antigène M (M +) l'antisérum obtenu est à même d'agglutiner, à hautes dilutions, non seulement les globules humains M +, mais aussi ceux M—, évidemment parce que l'activité antihumaine générique est tout à fait prédominante.

Pour obtenir une action strictement groupe-spécifique il est nécessaire de soustraire à l'immuno-sérum, moyennant une absorption convenable, toutes les fractions qui ne sont pas groupe-spécifiques et précisément: un sérum préparé avec des globules M + et absorbé avec globules M— (c'est-à-dire où il n'y a pas de M) deviendra, spécifiquement anti-M, c'est-à-dire il agglutinera (dans les conditions opportunes d'expérience) seulement les globules humains contenant l'antigène M. Les autres fractions (antihumaines) d'anticorps ont été soustraites par les globules M—. De la même façon a lieu inversement la préparation du sérum anti-N.

La possibilité d'obtenir les sérums immuns groupe-spécifiques anti-M et anti-N n'a pas seulement un remarquable intérêt scientifique, mais elle serait dès maintenant d'une importance pratique considérable.

En effet, les antigènes M et N sont des propriétés héréditaires mendéliennes, selon une règle toutefois différente de celle qui gouverne la transmission des antigènes A et B. Leur mise en évidence chez les enfants et les parents présumés double et même triple la probabilité d'obtenir, par les recherches sur le sang, l'exclusion des faux pères dans les procès de recherche de la paternité.

Et encore, tandis que dans la transfusion primaire les antigènes M N ont bien peu d'importance, précisément parce que les anticorps naturels correspondants manquent, dans la transfusion répétée ils méritent une grande attention, parce que le receveur peut avoir subi une stimulation immunitaire par la première transfusion de globules M +, ou N +. Il réagira alors de manière dangereuse à une seconde transfusion d'un sang qui, sur la base des groupes sanguins classiques, devrait être considéré complètement compatible et inoffensif.

Selon toute vraisemblance, aussi le succès des greffes homoplasti-

ques pourrait être en rapport avec la présence ou l'absence de ces antigènes.

Bien digne de consideration est donc l'étude des méthodes opportunes pour faciliter la préparation de sérums diagnostiques groupe-spécifiques convenables.

Cette préparation a rencontré, jusqu'à présent, des difficultés tellement sérieuses qu'on ne peut encore comprendre la recherche des antigènes M N parmi les méthodes applicables habituellement dans la pratique.

En effet, pour commencer cette recherche, il est nécessaire non seulement de connaître d'abord des individus M+ N— et M— N+ (les individus M+ N+ sont peu appropriés pour la préparation des antisérums), mais de les avoir constamment à sa disposition pour le prélèvement des globules rouges.

La préparation des lapins fournisseurs ne présente aucune particularité, car il s'agit, comme d'habitude, d'injections intraveineuses ou intrapéritonéales de globules lavés. Mais, comme tous les lapins ne sont pas de bons fournisseurs, il est nécessaire de se pourvoir d'un nombre assez considérable d'animaux. La période d'immunisation dure quelques semaines, pendant lesquelles il faut toujours avoir sous la main d'assez grandes quantités de globules à injecter. Il est vrai que dans ce but il n'est pas toujours nécessaire d'avoir recours à de nouvelles saignées, puisque, lorsqu'on a recueilli le sang dans le liquide de Rous, il peut être bien conservé au frigidaire, pour une période de temps suffisante.

Lorsqu'on a obtenu un titre assez élevé, on prélève stérilement l'antisérum et on peut, comme d'habitude, le conserver au frigidaire, dans des ampoules soudées. Un sérum bien preparé peut être même expédié dans en souffrir.

Mais l'antisérum brut est, comme tel, inutilisable; il faut, comme on a dit plus haut, l'absorber. Et voilà que l'on a besoin de nouvelles doses de globules M+ N— et M— N+ et en une telle quantité qu'il faut avoir recours à la saignée.

Le procédé d'absorption est très délicat et on ne réussit pas à le réaliser aseptiquement, même par les expérimentateurs les plus compétents tels que Landsteiner.

Le sérum absorbé (qui est aussi dilué) se conserve très mal et en tous cas, exclusivement à la température du frigorifique (0° à 0,5°) et pour un temps très court; dans les glacières usuelles il s'altère rapidement. Il ne peut supporter impunément les transports à distance.

Les échantillons que j'ai demandés à Mr. Landsteiner et qui, comme d'autres expédiés en Europe, ont formé le point de départ de mon étude ultérieure, étaient hermétiquement fermés en des ampoules, après addition de toluol comme antiseptique.

Ces échantillons étaient troubles, pas très actifs et ils servirent exclusivement à identifier, provisoirement, parmi une vingtaine d'individus (particulièrement du groupe O) le petit nombre se rapportant aux types M+ N— et M— N+, sur lesquels on pouvait compter pour les injections répétées à pratiquer chez le lapin et pour l'absorption élective ultérieure.

Ces échantillons furent évidemment très précieux pour un Institut scientifique, comme point de départ pour une longue et délicate préparation. Mais il ne pouvaient certainement être mis dans les mains de praticiens qui eussent voulu en user sans plus dans un but diagnostique.

Donc, tandis que l'antisérum de lapin pourrait facilement être mis (dans le commerce) à la disposition de tout le monde, les sérums absorbés (les seuls vraiment utiles en pratique) ne se prêtent pas à être largement distribués.

Même, étant donné la conservabilité très réduite des globules rouges et la difficulté de s'en procurer à mesure qu'on en a besoin, on ne pourrait penser à distribuer séparément un antisérum brut et des globules rouges frais, propres à l'absorption.

C'est pourquoi j'ai cru très important, pour la diffusion des études sur les antigènes M N, d'obtenir une préparation globulaire durable, qui puisse permettre, à tout moment et n'importe où, de procéder à l'absorption des antisérum bruts conservés dans l'Institut comme matériel de stock, et qui puisse aussi éventuellement servir pour préparer les antisérums mêmes.

Mon expérience concernant les agglutinogènes A et B m'avait démontré que l'ébullition ne les détruit pas; c'est-à-dire que les globules rouges qui les contiennent gardent leur pouvoir d'absorption groupe-spécifique, même après avoir été bouillis en solution physiologique. J'ai donc cherché à vérifier si le même fait avait lieu pour les agglutinogènes M et N.

J'ai commencé par préparer les antisérum de lapin par des injections de globules rouges humains frais du groupe O, choisis grâce aux échantillons toluolisés, reçues de New York (je me suis aussi servi de déterminations faites sur mon sang et sur celui de parents, exécutées en 1929 à New York dans le laboratoire de Landsteiner).

Deux lots de 4 lapins chacun furent préparés, respectivement avec des globules M+ N— et M— N+.

Le sang des individus fournisseurs avait été recueilli stérilement, par une abondante saignée, dans du liquide de Rous et conservé au frigidaire; selon les besoins on prélevait une partie du mélange et on lavait les globules deux fois.

Après 6 ou 7 injections intraveineuses, d'environ un cmc. de sédiment

suspendu en solution physiologique, une partie des lapins avait atteint un degré d'immunisation suffisant.

Titre de l'agglutinine anti-homme:

	Après l'immunisation	Avant l'immunisation
Lapin N. 2021	= à 2560	= à 8
» » 2023	= à 5120	= à 4
» » 2025	= à 2560	= à 64
» » 2027	= à 2560	= à 64

D'autres avaient atteint seulement un titre inférieur (640 ou 1280) et ne furent pas utilisés systématiquement.

En disposant les absorptions nécessaires pour mettre en évidence la spécificité de groupe (les sérums obtenus de cette façon m'ont servi pour les premières recherches sur la distribution et l'hérédité de M N en Italie, qui seront exposées ultérieurement) j'ai étudié comparativement l'absorption par les globules M + et N + tantôt frais, tantôt cuits.

On obtenait la préparation de globules cuits en lavant trois fois le sédiment globulaire centrifugé à fond; en suspendant de nouveau à 2-3% en solution physiologique et en laissant lentement tomber goutte à goutte la suspension dans un matras, où l'on faisait bouillir un peu de solution physiologique. (Pour plus de commodité la suspension coulait d'un séparateur où l'on faisait tourner un agitateur, à l'aide d'un petit moteur; dans le matras on mettait des morceaux de matériel poreux, pour régulariser l'ébullition).

Le sédiment des globules cuits peut être recueilli et mis en ampoules scellées puis stérilisé à nouveau par l'ébullition; dans ces conditions il se conserve indéfiniment.

Il est inutile de rapporter ici tous les essais exécutés plusieurs fois sur les différents sérums; ils étaient disposés de la façon suivante: les sérums de lapin inactivés et dilués à 1:10 étaient mélangés en parties égales avec du sédiment globulaire opportun, frais ou cuit, et tenus pendant 12-14 h. à 0°. Centrifugation et répétition de l'opération avec une seconde dose de globules. Titrage du sérum prélevé par rapport aux globules M + et N + frais, dans la manière usuelle (dilution limite).

Voilà le résultat de quelques séries d'essais:

	Sérum anti-M	
	N. 2025	N. 2027
Non absorbé:		
titre anti-M	2560	2560
titre anti-N	2560	2560
Absorbé avec globules M — N + frais:		
titre anti-M	400	400
titre anti-N	0	0
Absorbé avec globules M — N + cuits:		
titre anti-M	400	400
titre anti-N	25	50
Absorbé avec globules M + N — frais:		
titre anti-M	0	0
titre anti-N	0	0

	Sérum anti-N	
	N. 2021	N. 2023
Non absorbé:		
titre anti-M	2560	5120
titre anti-N	2560	5120
Absorbé avec globules M + N — frais:		
titre anti-M	0	25
titre anti-N	100	200
Absorbé avec globules M + N — cuits:		
titre anti-M	0	25
titre anti-N	100	200
Absorbé avec globules M — N + frais:		
titre anti-M	0	0
titre anti-N	0	0

D'après ces essais, il résulte nettement: que nos sérums possédaient une activité groupe-spécifique notable, masquée par celle générique antihumaine et que l'absorption par des globules frais appropriés (M— sur les sérum anti-M, N— sur les sérum anti-N) a mis pleinement en évidence; que les globules cuits ont exercé une activité absorbante groupe-specifique évidente, mais toutefois moins précise que les globules frais et telle à laisser parfois quelques doutes lorsqu'il s'agit des diluitions les plus basses (25-50).

J'ai dû supposer que l'activité absorbante des globules cuits pouvait être réduite, non pas à la suite d'altération essentielle de leur affinité chimique. mais pour de simples raisons physiques de surface.

En effet, la suspension des globules cuits, obtenue de la manière décrite plus haut est assez grossière: à l'examen microscopique les globules cuits paraissent réunis en grosses mottes.

Ces mottes se déposent assez rapidement, de sorte que, en peu de minutes, la partie supérieure du sérum reste au dehors du contact de la masse globulaire. Il est facile de s'expliquer par cela le fait que l'absorption puisse éventuellement n'ître pas complète.

Dans le but d'éliminer cet inconvénient j'ai pratiqué l'homogénisation de la suspension.

En employant des globules homogénisés on obtient des résultats bien meilleurs et avec de moindres quantités de sédiment, comme j'ai pu le constater dans les expériences suivantes:

20 cc. de sérum 2023 anti-N, dilué à 1: 10 absorbé avec 5 cc. de sédiment de globules cuits homogénisés M + N —, pendant deux fois 24 h. à 0°;

de même:

20 cc. de sérum 2025 anti-M, dilué au 1: 10 sont absorbés avec 5 cc. de sédiment de globules cuits homogénisés M — N + pendant deux fois 24 h., à 0°.

Au bout de 24 heures, on voit les globules qui commencent seulement alors à sédimenter. La séparation par centrifugation a lieu très facilement, de manière bien plus nette qu'avec des globules frais.

Les essais exécutés avec globules M et N frais donnent les résultats suivants (En mêlant à parties égales le sérum à 1:10 et la suspension globulaire, la dilution minima correspond au 1: 20):

	Dil. 1 : 20	Dil. 1 : 40	Dil. 1 : 80
Sérum 2023 anti-N absorbé + globules N	+ +	+ +	+
Sérum 2023 anti-N absorbé + globules M	—	—	—
Sérum 2025 anti-M absorbé + globules N	— (*)	—	—
Sérum 2025 anti-M absorbé + globules M	+ +	+ +	+

(*) Traces microscopiques.

Les essais furent faits à la température ordinaire (18-20°) et donnèrent des résultats très nets.

L'anti-M au 1: 20 donna des traces minimes microscopiques d'agglutination aspécifique avec les globules N: mais lors d'une troisième absorption celles-ci même disparurent. On ne crut pourtant pas nécessaire, dans les essais en séries, de répéter trois fois l'absorption, puisque, en ayant adopté la dilution au 1: 80, les agglutinations aspécifiques, même minimes, disparaissaient et ne pouvaient par conséguent induire en erreur.

L'activité anti-M de nos sérums absorbés, sur de nombreux échantillons, s'est montrée non seulement plus énergique que l'anti-N, mais aussi habituellement plus nette.

Dans les réactions sur l'antigène M, le résultat négatif a été toujours très nettement distinct du résultat positif. Dans celles sur l'antigène N (exécutées à la température ordinaire) on a eu généralement des résultats tout aussi clairs (négatifs et positifs); mais dans certains cas, il pouvait encore exister un doute; pour l'éclairer, il fallait (d'après le conseil de Landsteiner) refaire la réaction à 37°, ou bien avoir recours à l'examen microscopique (1). Le contrôle fait au moyen de la centrifugation suivant Schiff donne lieu à des différences macroscopiques concordérables.

Dans les épreuves positives, on obtient une agglutination massive presque indissociable; dans les épreuves négatives les globules se mettent à nouveau en suspension, de manière homogène; pourtant, aux dilutions au 1: 20 et au 1: 40, on voit, parfois, au microscope, de petites agglutinations.

Mais la distinction entre N— et N+ est, en dehors de cas exceptionnels (tout particulièrement les hétérozygotes M+ N+), très facilement réalisable.

Les globules cuits se sont donc montrés parfaitement aptes, après leur homogénisation, aux procédures d'absorption groupe-spécifique des sérums immuns anti-M et anti-N.

Des expériences sont en cours, pour vérifier s'ils peuvent aussi servir pour les immunisations des lapins (2). Des recherches exécutées en d'autres directions, dans notre Institut, nous le laissent supposer.

Mais, dès à présent, la possibilité de conserver séparément les sérums immuns bruts, renfermés en ampoules et les préparations globulaires stériles destinées à l'absorption, constituent un avantage considérable; car cela permet d'obtenir facilement le réactif groupe-spécifique avec du matériel de stock, qui peut être très facilement livré par l'Institut qui le possède.

Ce la représente une condition essentielle afin que les importantes études sur ces nouvelles propriétés groupe-spécifiques puissent s'étendre dans la même mesure que celles qu'on a faites précédemment sur les groupes sanguins classiques. La facilité d'expérimentation permettra sans doute d'arriver, dans un court délai, à des résultats du plus grand intérêt.

---

(1) *Landsteiner* et *Lévine* trouvèrent qu'on obtient plus facilement le sérum anti-N que l'anti-M. *Thomsen*, au contraire, constata (de même que nous, dans nos recherches) le fait opposé. Ces différences sont évidemment liées à des particularités individuelles du sang injecté ou du lapin fournisseur.

(2) *Note à la correction des épreuves.* Ces expériences n'ont pas fourni de bons résultats.

LATTES L. et GARRASI G. – **Premières recherches italiennes sur les antigènes individuels " M " et " N ". – II.e Hérédité et distribution des antigènes M et N dans la population italienne.**

Après avoir obtenu, par le procédé indiqué dans la note I, les anticorps groupe-spécifiques anti-M et Anti-N, nous les avons sans plus utilisés pour étudier chez les familles italiennes l'hérédité et la distribution des deux antigènes.

La première recherche, tout spécialement, offre un intérêt particulier, par le fait qu'elle vient apporter une ultériore contribution aux observations encore peu nombreuses (Landsteiner et Levine, Schiff, Wiener et Vaisberg, Thomsen et Clausen) sur la transmission de ces nouveaux antigènes individuels et une nouvelle base à la règle mendélienne, selon laquelle cette transmission a lieu.

On peut considérer désormais comme bien prouvé que cette règle, tout en étant d'aspect mendélien, n'est point du tout identique à celle qui gouverne la transmission des propriétés A, B, O, qui donnent lieu aux groupes sanguins classiques. Elle peut se schématiser ainsi: Il existe deux qualités génétiques A et a, qui se disposent en couple mendélienne sans toutefois qu'il y apparaisse une prédominance ou une réceptivité.

L'homozygote A A donne lieu à l'antigène M (formule M+ N—)
L'homozygote a a donne lieu à l'antigène N (formule M— N+)
L'hétérozygote A a donne lieu aux antigènes MN (formule M+ N+)
(La formule M— N— n'existe point).

Dans les premières observations de Landsteiner et Levine et Wiener-Vaisberg on avait remarqué quelques exceptions (7 en tout); il s'agissait cependant de désaccord vis-à-vis du père, ce qui pouvait trouver sa raison dans l'illégittimité. Dans les séries suivantes on n'eut plus à signaler aucune exception.

Nous avons examiné jusqu'à présent 117 familles, presque toutes appartenant au territoire modénais, avec une très grande prépondérance de la classe rurale. (Dans notre tableau figurent seulement: une famille avec père vicentin et mère palermitaine; une avec père véronais, une avec les deux parents de Bari). Notre matériel a une double composition: 47 familles sont constituée seulement par le nouveau-né avec ses père et mère (1 cas de jumeaux) et elles furent personnellement recueillies par le second d'entre nous à la Clinique Obstétricale. Les restantes 70 familles furent recueillies ça et là, parmi des familles rurales connues personnellement, ce dont nous devons remercier le candidat au doctorat. M. Lino Smerieri qui nous donna une àide valide Le sang était recueilli dans de petits

tubes bouchés au caoutchouc et contenant quelques gouttes de liquide de Rous; il était gardé au frigidaire jusqu'au moment de l'examen, qui avait toujours lieu dans les 24 heures. Le plasma enlevé, le sédiment globulaire était opportunément suspendu en solution physiologique et examiné séance tenante. Pour chaque cas on détermina les groupes sansuins (ce dont s'occupa, dans le plus grand nombre de cas, M. Garrasi) et on rechercha (ce que fit M. Lattes personnellement) les agglutinogènes M et N.

Dans cette communication nous nous bornerons à présenter par des Tableaux les résultats obtenus, soit au point de vue héréditaire, qu'à celui ethno-antropologique, en les mettant en comparaison avec ceux des autres Auteurs.

TABLEAU N°. 1. – *Hérédité des groupes sanguins dans les* 117 *familles.*

Combinaison matrimoniale	Nombre des familles	Nombre des fils dans chaque groupe			
		O	A	B	AB
O × O	21	38	—	—	—
A × A	16	6	20	—	—
O × A	55	48	51	—	—
B × B	—	—	—	—	—
O × B	7	5	—	6	—
A × B	6	3	3	2	2
O × AB	3	—	4	3	—
A × AB	7	—	3	4	2
B × AB	2	—	1	1	—
AB × AB	—	—	—	—	—
Total	117	100	82	16	4
		202			

TABLEAU N. 2 – *Hérédité des agglutinogènes M et N dans les* 117 *familles.*

Combinaison matrimoniale	Nombre des familles	Nombre des fils de chaque type		
		M+	N+	M+ N+
M+ × M+	12	22	—	—
N+ × N+	4	—	6	—
M+ × N+	8	—	—	9
M+N+ × M+N+	54	16	17	65
M+N+ × M+	24	23	—	17
M+N+ × N+	15	—	12	15
Total........	117	61	35	106
		202		

Tableau N°. 3. – *Tableau général de l'hérédité des agglutinogènes M et N dans les travaux de Landsteiner, Levine, Schiff, Wiener-Vaisberg, Thomsen-Clausen, Lattes-Garrasi.*

Combinaison matrimoniale	Nombre des familles	Nombre des fils de chaque type		
		M+ (AA)	N+ (aa)	M+N+ (Aa)
M+ × M+ (AA × AA)	44	121	—	1
N+ × N+ (aa × aa)	21	—	69	—
M+ × N+ (AA × aa)	43	—	1	101
M+N+ × M+N+ (Aa × Aa)	137	83	72	191
M+N+ × M+ (Aa × AA)	132	191	3	229
M+N+ × N+ (Aa × aa)	115	2	186	186
Total......	492	397	331	708
			1436	

Tableau N°. 4. – *Répartition anthropologique des trois types sanguins M+, N+, M+N+ dans la population italienne (modénaise) comparée avec d'autres recherches.*

(Pour quelques AA. la répartitions des trois types a été calculée sur la base des chiffres totaux des réactions M+ et N+).

Auteur	Population	Nombre des observ.	M+ %	N+ %	M+N+ %
Lattes et *Garrasi*	Italienne	430	27,2	15,3	57,4
Landsteiner et *Levine*...	Améric. blancs	1708		19,1	54,8
» »	» »	532	26,1		
» »	Améric. nègres	730		28,1	44,3
» »	» »	181	27,6		
» »	Améric. rouges	205	60,0,	4,9	35,1
Wiener et *Vaisberg*.....	Américains	904	48,3	21,3	30,4
Schiff	Allemands	2200	29,8	20,7	49,5
»	Japonais	186-188	48,4	21,8	29,8
Schockaert	Belges	557-559	39,0	27,2	33,8
Dujarric de la Rivière et *Kossovitch*	Français	300	33,0	21,2	45,8
Thomsen et *Clausen*....	Danois	442	29,9	25,6	44,5
Shigeno	Japonais	329	36,2	22,8	41,0
Amzel	Polonais	480		22,3	

D'après ces tableaux il résulte:

1) que l'hérédité des antigènes M et N a eu lieu dans nos 117 familles exactement selon la règle sus-indiquée et qu'en particulier aucun parent M+ n'eut de fils N+, ni inversement. La règle acquiert donc, par nos observations, un nouvel appui.

2) la répartition des types M, N, et MN dans la population italienne (modénaise) est résultée assez semblable à celle rencontrée chez d'autres populations blanches précédemment étudiées, par ex. la nord-américaine et l'allemande. Relativement à celles-ci on observa toutefois une proportion nettement moindre du type N+.

On observe des écarts bien plus grands, non seulement par rapport aux populations de couleur, mais aussi à d'autres plus proches, telles que les Belges et les Français.

Quoique le nombre des individus que nous avons examinés soit déjà assez considérable, les résultats ne peuvent cependant être que largement approximatifs, en qui concerne la population italienne, surtout parce que, en étant donné qu'il s'agit de familles, une certaine sélection devient inévitable.

Comme cela a eu lieu pour les groupes sanguins, il est certain que des recherches bien plus étendues viendront compléter nos premiers intéressants résultats.

BIBLIOGRAPHIE.

Landsteiner and *Levine*, « On individual differences in human blood. ». J. exp. med., 47, 1928, 757.

Wiener and *Vaisberg*, « Heredity of the agglutinogens M and N of Landsteiner and Levine ». Journ. immunol., 20, 371, 1931.

Schiff, « Zur Verbreitung der Faktoren M-N von Landsteiner-Levine ». Zentralbl. Bakter., 96, 336, 1930.

— « Die Vererbungsweise der Faktoren M und N von Landsteiner und Levine ». Klin. Woch., 9, 1956, 1930.

— « Die gerichtlich-medizinische Bedeutung der serologischen Eigenschaften M und N von Landsteiner-Levine ». Deutsche Zeits. ger. Med., 18, 41, 1931.

Shigeno, « Das Vorkommen der serologischen Faktoren M und N bei Japanern ». Zeitschr. Immun. forsch., 71, 88, 1931.

Schockaert, « Sur la fréquence en Belgique de l'hémo-agglutinogène N de Landsteiner-Levine ». C. R. Soc. Biol., 103, 544, 1930.

Dujarric de la Rivière et *Kossovitch*, « Recherches sur les groupes sanguins ». Ann. Inst. Pasteur, 45, 107, 1930.

Thomsen e *Clausen*, « Sur les agglutinogènes M et N au Danemark ». Hospitalstidende, 74, 321, 1931. (Je n'ai pu consulter encore un autre travail de *Clausen*, ibid. 1932, paru ultérieurement).

Amzel, « La distribution de l'élément M du sang dans la population polonaise ». C. R. Soc. Biol., 104, 1083, 1930.

TENEFF S. – **Valeurs quantitatives des propriétés spécifiques des groupes, et constitution.**

(Communication présentée au IVe Congrès Italien de Microbiologie, de Milan).

Tout le monde se rend compte de l'importance qu'a le pouvoir isoagglutinant des sérums témoins pour le diagnostic du groupe dans les transfusions. Tous ceux qui pratiquent couramment la transfusion, connaissent les dangers d'une erreur éventuelle dans le diagnostic du groupe. Aujourd'hui, ces dangers, avec les moyens dont nous disposons pour les recherches et les progrès de nos connaissances, ne devraient être rappelés que comme une curiosité historique; mais chaque année on signale des cas ayant de fâcheuses conséquences dues à une transfusion incompatible.

Pour quelles raisons se trompe-t-on dans un diagnostic de groupe?

Dans l'état actuel de nos connaissances, il semble qu'il faille prendre en considération trois conditions différentes: l'existence de sous-groupes, les valeurs quantitatives des isoagglutinogènes, et les isoagglutinines.

L'étude des sous-groupes n'est pas encore complète et il est difficile de se rendre compte de leur importance pratique dans le phénomène de l'isoagglutination et dans le fait qu'il se manifeste des incompatibilités au cours d'une transfusion.

Nous savons tous que pour des centaines de transfusions, pour lesquelles l'homologie de groupe du sujet récepteur et du donneur est établie d'une façon rigoureuse et la technique est parfaite, ils ne se produit jamais des troubles graves: rarement on en observe de passagers que je ne rappellerai même pas et qui n'ont aucune importance pratique.

Mais les valeurs quantitatives des isoagglutinogènes et des isoagglutinines ont une importance bien plus grande. Pour que le phénomène de l'isoagglutination se produise « in vitro » il faut que les isoagglutinines et les isoagglutinogènes soient présents même en petites quantités: on comprendra toutefois que, pour que les phénomènes caractéristiques dus à un incident provoqué par une transfusion incompatible se produisent, il est nécessaire que les deux qualités précédentes interviennent en quantité suffisamment forte. En certains cas, des facteurs dus à la composition physique et chimique individuelle du sérum peuvent aussi jouer un rôle; mais il est sûr que le phénomène de l'agglutination a le rôle prépondérant.

Tout le monde sait que de graves incidents peuvent se produire en pratiquant la transfusion avec du sang I dans II ou III lorsque le sujet

qui reçoit est fortement anémié et lorsque le donneur a un pouvoir isoagglutinant très prononcé. Dans ce cas c'est le sang de celui qui reçoit qui se trouve agglutiné, tandis que dans le cas de transfusions avec du sang incompatible c'est le sang de celui qui donne qui est agglutiné.

Peut-on admettre l'éventualité opposée ? C'est-à-dire que si l'on pratique la transfusion à un sujet récepteur dont le sérum a un titre d'isoagglutination plutôt bas, avec du sang incompatible qui a des isoagglutinogènes quantitativement pauvres, se peut-il qu'aucun incident ne se produise, au tout au moins aucun incident grave ?

Pendant une période de deux ans d'activité de la Section de Turin des Volontaires du Sang, ce fait s'est produit avec 5 sujets donneurs qui, ayant été classés comme donneurs universels, même en étant de IIème et de IIIème degré, ont fourni du sang à plusieurs reprises à des récepteurs de différents groupes sans qu'aucun trouble grave se soit manifesté.

Même si l'on envisage l'hypothèse exposée plus haut comme cause de ce phénomène il est aussi démontré que l'erreur de diagnostic du groupe s'est souvent produite, ce que *Dyke* et *Mayo* ont du reste aussi observé. Moi même j'ai constaté, en étudiant les diminutions post-opératoires de la propriété d'être agglutinés des globules rouges, les grandes difficultés du diagnostic du groupe lorsqu'on se sert de sérums dont le titre est bas et les globules rouges sont quantitativement très pauvres en isoagglutinogènes. Dans tous les cas ces donneurs seront soigneusement étudiés par la suite.

***

Après avoir brièvement exposé l'importance pratique de la valeur quantitative des propriétés spécifiques du groupe et étant donné que tout le monde connaît l'importance diagnostique des sérums à titre élevé, j'ai voulu étudier s'il existe une méthode pratique qui permette de juger « à priori » ces valeurs quantitatives d'après le type somatique.

Dans ce but j'ai pratiqué de nombreuse titrages, du sérum et de l'agglutinabilité des globules rouges, sur 72 individus des quatre groupes sanguins, appartenant en partie à l'Association des donneurs de sang de Turin et en partie à des hospitalisés dans notre Clinique pour des affections chirurgicales non fébriles (hernies, appendicites chroniques, varices, etc.).

Il serait trop long de citer ici tous les cas (dont un certain nombre a déjà été décrit dans d'autres communications), étudiés en ce qui concerne la variation de ces valeurs quantitatives. Je tiens, pourtant, à en rappeler quelques uns très démonstratifs. J'ai adopté la classification de Viola des types constitutionnels:

N.	Nom	Age	Type constitutionnel	Groupe	Isoagglutinines		Isoagglutinogènes	
					gl. A	gl. B	sérum α	sérum β
1	M. I.	32	Normotype	II	—	1: 100	1: 50	—
2	P. P.	39	Normotype	II	—	1: 25	1: 25	—
3	N. C.	21	Microsplanchnique	II	—	1: 150	1: 150	—
4	R. C.	23	Microsplanchnique	I	1: 25	1: 15	1: 25	1: 25
5	S. T.	25	Mégalosplanchnique ...	II	—	1: 75	1: 50	—
6	M. P.	24	Mégalosplanchnique ...	III	1: 200	—	—	1: 225
7	B. B.	37	Mégalosplanchnique ...	I	1: 50	1: 50	1: 50	1: 25

Au cours de ces recherches je me suis servi, de préférence, du même sérum et des érythrocytes d'un même individu.

D'après ces exemples il est possible de se rendre compte de la diversité des valeurs quantitatives, soit chez les divers types constitutionnels, soit qu'on les considère par rapport à un même type constitutionnel. Dans les classifications actuelles en somme, qui varient uniquement dans les détails et non dans la substance, aucun type ne possède uniquement les valeurs plus fortes et aucun autre des valeurs moins prononcées, mais dans chaque type trouvent place des sujets ayant un titre très marqué d'isoagglutination et d'autres qui en possèdent un moindre.

De même il n'y a aucun rapport entre les types constitutionnels et les groupes sanguins (Hirschfeld, Weszecski et Verzar, etc.).

***

Un examen rigoureux du problème des propriétés spécifiques des groupes doit naturellement faire une distinction entre ce qui dépend de la constitution et ce qui dépend de la condition (Tandler et Bauer).

Lorsque Landsteiner découvrit l'examen du pouvoir isoagglutinant chez les individus normaux, et après que l'on eu démontré que les groupes sanguins sont transmissibles par hérédité, on ne peut douter que ce phénomène repose sur un fait nettement constitutionnel. Ce phénomène constitutionnel plus caractéristique de l'individualité, ne peut être produit que par les isoagglutinogènes, tandis que les propriétés du sérum peuvent être considérées, logiquement, comme un produit elaboré par les cellules de l'organisme, d'une façon qui nous est encore inconnue (Lattes).

Ce qui caractérise les individualités groupe-spécifiques, ce sont donc les isoagglutinogènes qui sont fixes, du côté qualitatif, pendant toute la vie et ne sont point sujets aux influences extérieures ou intérieures qui pourraient en modifier la qualité (Mino, Esposito, Meyer, Ziskoven).

La question des valeurs quantitatives des propriétés spécifiques des groupes est, au contraire, très differente. Elles ne sont pas les mêmes chez les différents individus appartenant au même groupe; elles ne sont pas constantes chez le sujet pendant les différentes périodes de sa vie physiologique et — ce qui est très important — elles sont sujettes à des influences internes et externes qui peuvent les porter à un niveau très élevé ou bien les abaisser de beaucoup, au point d'en rendre très difficile la démonstration (Teneff, Biancalana, etc.).

Comme Lattes l'observe très justement, d'après leur abondance ou leur rareté, il est possible, en beaucoup de circonstances, de se faire une idée de l'activité et de la réactivité biologique de l'organisme en général et de certains systèmes organiques en particulier.

Les valeurs quantitatives se trouvent donc conditionnées par des facteurs dont quelques uns peuvent être mis en évidence et d'autres non: elles ne peuvent donc être considérées comme une attribution constitutionelle.

L'existence des propriétés spécifiques des groupes, qui sont un signe purement constitutionnel, porte à présumer des valeurs qui, en certains cas, dépendent de facteurs quelquefois accidentels, et toujours différents, de telle façon qu'on ne peut les classer parmi les signes constitutionnels.

***

Comme conclusion, étant donné qu'il n'existe pas des signes qui peuvent nous donner « a priori » une idée du titre isoagglutinant du sérum d'un certain individu, pour choisir les donneurs de sang pour la préparation des sérums témoins (de contrôle), il est nécessaire de pratiquer les titrages très soigneusement pour être sûr d'avoir des sérums dont le pouvoir est bien marqué.

FRONTALI G. – **Recherches sur le virus poliomyélitique.**

(Communication présentée au IVe Congrès Italien de Microbiologie, de Milan).

Les procédés techniques nécessaires pour cultiver le virus poliomyélitique suivant Flexner et Noguchi et pour l'identifier à l'aide de l'inoculation chez des animaux réceptifs, rendent difficile la recherche courante de ces virus dans les liquides organiques et dans les selles des malades, aussi bien que des porteurs sains, recherche qu'il serait désirable de pouvoir faire dans le but du diagnostic et de la prophylaxie. En effet, tout le monde comprit l'importance pratique de l'identification des sujetsatteints de formes abortives de la maladie de Heine Medin et des porteurs sains, en déterminant aussi avec assurance lesquels, parmi les liquides organiques (liquor, salive, urine, fèces, etc.) contiennent le virus et peuvent être considérés, par là, comme des vehicules de contagion.

En partant de nos investigations sur le virus encéphalitique, poursuivies par la méthode de l'inoculation du liquide cérébro-spinal sur la cornée du lapin, nous avions déjà pu constater (voir notre communication au XIVe Congrès de Pédiatrie, à Florence) que le liquide cérébro-spinal de formes récentes de la maladie de Heine Medin détermine constamment sur la cornée du lapin une *kératite puntata* pareille à celle qui a été décrite par Knauer et Jaensch à propos de certaines formes d'encéphalite.

Dans 16 cas de la maladie de Heine Medin soit dans les formes de la moelle que de l'encéphale, nous avons obtenu constamment, en inoculant le liquide cérébro-spinal (non concentré) sur des scarifications croisées dans la cornée du lapin, l'apparition, après 36-72 heures, de petits infiltrés grisâtres, ponctiformes, tout près des scarifications et confluents tout autour du point où les scarifications mêmes se croisaient. L'hypérémie conjonctivale était nulle ou très légère; nulle aussi la sécrétion catarrhale de la conjonctive. On n'a jamais observé l'apparition de formations vésciculeuses, d'amples opacités aboutissantes au pannus cornéal ainsi qu'il arrive dans les hérpes de la cornée, que nous avons aussi étudiées. Au contraire, au bout de deux jours, pendant lesquels les infiltrés ponctiformes se multipliaient et s'étendaient, ils commencaient à regresser jusqu'à disparaître totalement vers la 6ème-7ème journée, en laissant ensuite la cornée lisse et luisante.

Après avoir recueilli quelques parcelles de ces infiltrés, à l'aide d'une pointe d'aiguille et les avoir inoculées dans un autre lapin, on reproduisait en série la même kératite *puntata*, mais jamais une kératite du type herpétiforme.

Dans quelques cas l'animal a succombé en présentant des manifestations convulsives et parétyco-spastiques, et à l'examen histo-pathologique on a pu constater des infiltrations périvasales au dépens de l'encéphale.

Par contre, on n'obtenait aucune modification de la cornée lorsqu'on injectait le *liquor* provenant d'enfants sains ou atteints d'autres maladies en dehors de la poliomyélite épidémique, de la corée ou de l'encéphalite.

Dans le cas de la maladie de Heine Medin le *liquor* a démontré l'aptitude à déterminer les lésions dont ils est questions, jusqu'à environ 20 jours après le debut de la maladie, tandis qu'au bout d'un à deux mois il l'avait assurément perdue.

Néanmoins nous avons voulu étendre nos recherches, en utilisant non seulement le *liquor* provenant de cas avérés de maladie de Heine Medin, mais aussi la *salive*, l'*urine*, les *filtrés de fèces* de ces mêmes cas. On injectait ces différents produits sur la cornée du lapin, par le même procédé qu'on avait suivi pour le *liquor*. Pour chaque épreuve, on employait un lapin jeune, non préalablement utilisé, ayant un poids variable entre 0,Kgs.800 et 1,Kgs.200, en excluant les albinos.

Nous avons pu donc constater en 12 cas, que la *salive*, ainsi que le *liquor* injecté dans la cornée du lapin, donnait lieu au bout de 2 à 3 jours, à la même kératite *puntata*, laquelle disparait après 6 à 7 jours, en laissant la cornée lisse et luisante; que la lésion provoquée par l'inoculation de *salive*, aussi bien que celle due à l'inoculation du *liquor*, pouvait être transplantée d'un lapin à l'autre, se reproduisant régulièrement en séries.

Par contre, ni l'*urine*, ni le *filtré des fèces* n'ont jamais montré une aptitude à produire aucune modification de la cornée.

De l'autre côté la salive de cinq enfants sains n'a jamais déterminé d'altérations dans la cornée du lapin. Des salives de cinq sujets adultes, normaux, une a provoqué l'apparition d'une kératite herpéthique; tandis que les autres ont démeuré sans aucun résultat. Et de même on n'a obtenu aucun résultat par l'inoculation de la salive provenant d'enfants atteints de la maladie de Heine Medin (qui avaient donné un résultat positif pendant la phasé aigüe de la maladie) au bout de 35 à 50 jours après le debut de la maladie même.

À ce point, on a estimé particulièrement intéressant d'étudier l'influence que la salive de personnes ayant été en contact avec les enfants ci-dessus, c'est-à-dire de personnes suspectées d'être porteuses de la contagion, aurait pu exercer sur la cornée du lapin. C'est pourquoi on a fait recours, dans 11 cas, à la salive de la mère de l'enfant malade, qui l'avait soigné et qui avait nécessairement eu de contacts intimes avec le petit. Voici le résultat: dans 1 cas on n'a eu aucune réaction cornéale; en deux cas on a observé une kératite herpétique associée à une hyperhémie conjonctivale intense, à une sécrétion catarrhale de la conjonctive, à

une opacité étendue et à un pannus cornéal résidu; dans les autres 8 cas, par contre, on a observé une *kératite puntata* typique, qui ne présentait aucune différence vis-à-vis des lésions déterminées en même temps par la salive et par le *liquor* de l'enfant malade. Elle donnait aussi une épreuve positive de la réinoculation en série, pratiquée dans la cornée d'autres lapins.

On a essaié aussi, sur la cornée du lapin, la salive appartenant à deux médecins et à une infirmière, faisant partie du personnel qui avait soigné quelques uns de ces malades atteints de poliomyélite. La salive des deux médecins a donné un résultat négatif, tandis que celle de l'infirmière donna lieu à une kératite herpétique typique.

Dans certains cas, la kératite herpétique a sans doute troublé notre recherche, surtout au cours des épreuves faites avec la salive de sujets adultes, ce qui avait été déjà observé par Bastai et Busacca. En effet, la kératite herpétique, par ses manifestations imposantes peut masquer les manifestations extrèmement légères de la kératite *puntata*. Mais cela ne signifie pas que dans la plupart des cas le résultat ait été nettement négatif ou nettement positif.

En effet, il demeure avéré que dans 8 cas sur 11 cas examinés, la salive de la mère saine d'un enfant atteint de poliomyélite épidémique était capable de provoquer, dans la cornée du lapin, une kératite non différente de celle qui avait été provoquée par le *liquor* et par la salive de l'enfant affecté.

***

En résumant très brièvement ce que nous venons de dire, on peut considérer que dans le *liquor* appartenant à des cas récents (jusqu'à la vingtième journée) de maladie de Heine Medin, il existe un « *quid* » apte à provoquer dans la cornée scarifiée du lapin une kératite *puntata*. Il paraît que ce « *quid* » n'est pas une substance toxique, mais plutôt un virus vivant, car on peut le transplanter en série, d'une cornée à l'autre. On le distingue parfaitement du virus herpétique, car il ne donne jamais lieu à la kératite herpétique, tandis que le virus herpétique ne détermine jamais la kératite *puntata*. Par contre, les altérations cornéales provoquées par le *liquor* de sujets poliomyélitiques ne se différencient, pour le moment, des altérations provoquées par d'autres formes d'encéphalite.

Il est important, au point de vue de la prophylaxie, de constater que la salive appartenant à des cas récents de maladie de Heine Medin présente constamment un pouvoir analogue à celui du *liquor*. En d'autres mots: si nous admettons que ce pouvoir puisse être identifié avec le virus poliomyélitique, il contiendrait ce virus, de sorte que la contagion pourrait être transmise aux autres, par la salive, soit par la nébulisation de la

salive même dans le milieu, soit par contact directe de muqueuse pendant le baiser et les contacts intimes qui se passent entre mère et enfant.

De l'autre côté, dans les 12 cas que nous avons plus complètement étudiés, l'urine et les fèces ont résultées régulièrement dépourvues de l'aptitude à provoquer sur la cornée du lapin les altérations susmentionnées, comme si elles ne contenaient pas de virus poliomyélitique.

Enfin il a été possible de constater la présence de l'aptitude à provoquer la kératite *puntata*, de la part de la salive de 8 femmes saines, qui avaient soigné leur enfant atteint de la maladie de Heine Medin.

Nos recherches sont bien loin d'être achevées. Nous avons pourtant estimé assez intéressant de les communiquer même au point où elles sont arrivées; elles nous font espérer de pouvoir, dans plusieurs cas au moins, lorsque l'influence du virus herpétique ne vient pas les troubler, reconnaître la présence du virus poliomyélitique en différents liquides organiques, particulièrement dans le *liquor* et dans la salive. De plus, elles nous permettent d'espérer qu'on puisse, à l'aide de la méthode indiquée, faciliter l'identification des porteurs de virus poliomyélitique et des sujets atteints de formes abortives autrement non reconnaissables avec facilité. Dès à présent, nos recherches nous consentent de considérer la saliva des malades récents de poliomyélite comme un probable vecteurs de contagion, dangereux pour les sujets se trouvant en condition de réceptivité; ce que l'on ne peut pas affirmer — pour le moment — pour ce qui concerne l'urine et les fèces des malades mêmes.

CANTANI F. – **Contribution à l'étude de l'immunité locale d'après les principaux résultats de six ans de recherches expérimentales.**

Il n'est pas possible d'exposer en détail dans une brève et trop concise communication, chaque donnée particulière, parue, au cours de six ans d'expériences de Laboratoire, et d'essais d'immunisation locale chez l'homme. Je me limiterai donc à mettre en évidence, d'une manière schématique seulement, quelques uns parmi les principaux élements qui ont frappé mon attention. Je négligerai délibérément toute référence bibliographique et même la simple énonciation: des résultats statistiques des observations faites jusqu'ici sur un total de 1052 cas; des modalités de différents traitements de vaccinothérapie locale; des essais de vaccination par inspirations endotrachéales; des rapports numériques des germes existants au niveau des lésions cutanées; des rapports qui existent, entre la vaccino-thérapie locale et la chirurgie. On ne peut pas résumer tous ces sujets en quelques lignes.

Sur le mécanisme d'action de l'immunité locale. — Dans le deuxième Congrès de notre Société j'eus l'occasion d'exposer partiellement quelques résultats de recherches, que j'avais commencées en 1925, et qui, achevées en collaboration avec M. Scala, nous ont amenés aux conclusions que je vais résumer en abrégé.

a) L'immunité locale est le résultat de l'action immunisante, strictement spécifique, développée au détriment du tissu en proie à l'infection; par les anatoxines qui en tant que produits antigéniques développent un pouvoir nettement antitoxique; par les corps bactériens eux mêmes, plus ou moins profondement modifiés, et par une série complexe qu'on ne pourrait pas définir exactement, de produits qui partent de la bactérie même pour arriver jusqu'à ses derniers produits de désintégration.

b) On ne peut pas attribuer le qualificatif de milieux immunisants aux derniers produits de scission bactérienne, considerés d'une manière aspécifique, pas plus qu'aux résidus proteïques de désintégration des milieux de culture, ni qu'à de nombreuses substances hétérogènes qui au point de vue chimique sont aussi voisines des premiers que des deuxièmes, puisque les phénomènes pseudo-immunitaires dont ils peuvent être la cause provocatrice, sont tellement rares et faibles, qu'ils ne méritent pas d'être pris en considération.

c) Dans la production de l'immunité locale l'organisme lui même en cours d'immunisation joue un rôle d'une certaine importance, par un mécanisme encore mal expliqué. Nous devons admettre que, même pour les tissus considérés séparément, il existe des états d'allergie et d'énergie vis-à-vis de l'action des germes infectants et des vaccins locaux.

d) Nos recherches au milieu de celles effectuées par les divers AA. aboutissent à une conception intermédiaire. En effet, nos expériences confirment entièrement que l'allergie est en rapport avec le germe et non pas avec les proteïnes des milieux nutritifs. Celles-ci nous poussent à nier, que la sécretion d'une substance biologiquement antagoniste est le produit d'une activité vitale du germe. Produit qui, d'après nos recherches ne pourrait pas être identifié avec l'antivirus de Besredka, ni avec les produits de désintégration des milieux nutritifs, parce qu'il est représenté par les proteïnes, et les anatoxines du germe même. Cependant nous devons admettre comme exacte la conception de Besredka sur le mécanisme de l'immunité locale, en substituant à une entité non démontrable, l'antivirus, une entité moins abstraite: le germe, ou les éléments constituant le deutoplasma, à fonction antigénique et vaccinante.

Nos points de vue sur le mécanisme d'action par lequel un organe ou un tissu déterminé passe de l'état d'infection à celui d'immunisation spécifique, ont été confirmées même par d'autres auteurs.

Des expériences personnelles successives ont appuyé nos théories primitives, que je ne peux pas croire définitives et axiomatiques tout en les estimant une base utile à l'étude bilatérale de ce problème.

Sur les bouillons-filtrats et les suspensions vaccinales dans la production de l'immunité locale. — Dans une étude comparative entre les deux milieux vaccinants, prenant en considération non seulement les modalités d'action, mais aussi la durée de l'immunité acquise et la tendance aux récidives, j'ai exprimé l'opinion que les suspensions microbiennes devaient manifester une action immunisante nettement supérieure aux bouillons-filtrats de Besredka. Une plus ample expérience personnelle ultérieure, et les résultats concordants d'autres Auteurs m'autorisent à croire parfaitement fondée la thèse expérimentale favorable à l'emploi des suspensions vaccinales au lieu des bouillons-filtrats de Besredka.

Sur la thermostabilité des suspensions vaccinales. — Comme suite à une série de résultats expérimentaux, je dois croire que: dans l'atténuation des suspensions microbiennes devant être employées comme vaccins locaux, si l'on se sert de l'action de la chaleur, il n'est pas nécessaire de se tenir au dessous des températures atteignant le point de coagulation des albumines microbiennes; même en dépassant beaucoup et pendant longtemps cette limite extrême, on ne remarque aucune modifications dans leurs pouvoirs antigéniques, malgré l'action hydrolisante des liquides vecteurs représentés par les solutions physiologiques.

Vaccins locaux autogènes et hétérogènes, homologues et hétérologues. — L'emploi de vaccins autogènes, mono ou polygéniques, doit être considéré comme le traitement de choix en vaccinothérapie locale: mon expérience se base, soit sur la constatation faite maintes fois lorsque le traitement autogène fut précédé d'un traitement hétérogène, soit dans les cas où l'on't dut instituer d'emblée le traitement hétérogène. Il existe une différence d'efficacité très marquée entre les traitements de vaccinothérapie locale homologues et hétérologues, puisque ces derniers se sont montrés comme doués de pouvoirs immunisants très faibles, ou presque nuls.

Sur les vaccins locaux renforcés aspécifiquement. — Parmi toute la série complexe de substances capables de renforcer aspécifiquement l'action d'un vaccin local, j'ai cru opportun choisir l'insuline, comme base à mes premières expériences.

En 1930 j'ai parlé de la possibilité de renforcer les vaccins locaux au moyen de l'addition de petites quantités d'insuline. Au cours de l'année, dans une brève communication préliminaire, j'ai énuméré quelques con-

ditions particulières d'application « in situ » de suspensions microbiennes insulinisées.

En cette occasion, j'ai remarqué que le renforcement du pouvoir immunisant n'est pas dû à l'action hypoglycémisante de l'insuline, mais à un stimulus cellulaire exercé directement « loco dolenti » par l'insuline même. J'ai déjà brièvement parlé des répercussions favorables qu'une telle méthode d'immunisation exerce sur la résolution de processus suppuratifs, non pas seulement chez les diabetiques, mais aussi chez des individus à réactions torpides. Ces observations ont été confirmées ensuite par d'autres auteurs et par une série d'expériences ultèrieures conduites en considérant non pas seulement l'action renforçante de l'insuline, mais en examinant aussi d'autres sécretions hormoniques. De telles recherches en cours de développement ne me permettent pas encore de tirer des conclusions sûres; mais, dès à présent, comme suite aux premiers résultats je me bornerai à énoncer l'hypothèse que parmi les autres sécrétions hormoniques en cours d'études les meilleurs pouvoirs de renforcement de l'immunité locale sont attribuables aux hormones testiculaires.

Je terminerai ces courtes notes, qui résument partiellement mes modestes recherches, avec le vif espoir d'avoir apporté une contribution de quelque utilité pour une étude du plus grand et complexe intérêt biologique.

Institut « Luciano Armanni » des OO. RR. de Naples (Section de Bactériologie).

TOFFOLETTO ETTORE – L'immunité histogénique dans la tuberculose pulmonaire et une nouvelle forme de sérothérapie.

(Communication présentée au IVe Congrès Italien de Microbiologie, de Milan).

En partant de l'hypothèse que le phénomène anaphylactique ne s'accorde pas avec la conception que nous avons de la physiologie, l'auteur a pensé que les inconvénients dont on se plaint pourraient être éliminés, et les points obscurs expliqués, si dans l'emploi des sérums dans un but thérapeutique, on cherchait de rester le plus près possible des conditions naturelles. Se basant sur des arguments et sur des expériences que l'auteur se réserve de rapporter, il croit que la peau est le tissu organique physiologiquement destiné à recevoir et à neutraliser les antigènes, en formant ainsi la plupart des anticorps dont tout être organisé dispose.

De ces deux prémisses, l'auteur a tiré ses déductions en faisant de nombreuses expériences sur l'homme. Celui-ci possédant un tissu cutané

très différent des autres animaux donne des réactions tout à fait différentes de celles signalées par les Laboratoires. Ces expériences commencées en 1926 et continuées jusqu'à présent consistent en ceci. L'auteur injecte dans la peau une quantité de sérum normal de cheval, aux doses de 0.10 jusqu'à 1 cc. selon les cas. Pour l'injection suivante, il attend que l'organisme soit entré dans la période anaphylactique. Il le déduit (en cas de réaction cutanée), de l'examen de la réaction même. Dans les cas où il n'y a pas de réaction, il laisse passer une limite de temps suffisante. Les cas où la réaction survient, sont les plus fréquents. On rencontre alors dans la peau toutes les manifestations anaphylactiques selon la sensibilité de l'organisme; mais ces manifestations anaphylactiques ne donnent lieu à aucun inconvénient grave; on peut donc se servir du procédé pour des buts thérapeutiques.

En d'autres mots, l'auteur emploie l'anaphylaxie décrite ci-dessus comme moyen de traitement, et il propose pour la nouvelle méthode le nom suivant: *sérothérapie intradermique anaphylactisante.*

Les résultats obtenus sont les suivants; les sujets atteints de maladies tuberculeuses, montrent une amélioration fréquente même là, où les traitements les plus énergiques avaient échoué. Le mécanisme d'action d'après l'auteur, serait le suivant: le sérum agit comme un antigène complet, par l'ensemble des substances anaboliques et cataboliques qu'il contient. En injectant dans son siège naturel (non par voie intramusculaire, sous-cutanée ou endoveineuse, mais intracutanée) une quantité à peu près égale à celles que l'organisme est naturellement destiné à recevoir (par ex. piqures d'animaux avec pénétration de proteïne dans la peau) il arrive qu'un tel sérum provoque la formation d'un excès d'anticorps. Après leur formation, ceux-ci entrent dans la circulation, en rompant l'équilibre des maladies chroniques, et en facilitant ainsi la guérison. Pour arriver à ce but, l'auteur a parfois employé du sérum de sang prélevé chez les parents du malade, au lieu de sérum normal de cheval; mais à la condition que ces parents eussent déjà heureusement surmonté depuis longtemps une affection tuberculeuse.

Depuis 1926 jusqu'ici, l'auteur a pratiqué plusieurs centaines d'intradermo-injections anaphylactisantes, en variant le nombre selon les malades et les résultats, et en passant du minimum d'une seule injection jusqu'à un maximum de dix ou vingt.

Cette méthode a été étendue, à toutes les maladies, et les résultats ont été différents. Très bons dans l'asthme bronchiale, bons dans les maladies cutanées, efficaces en quelques cas de cancer, d'arthtites chroniques, de maladies du système nerveux et mentales; nuls dans le diabète, dans les sequelles de l'encéphalite, et dans l'artériosclérose. Afin de rendre cette question plus claire, l'auteur va exposer quelques cas intéressants.

Le premier se rapporte à une jeune fille atteinte d'une forme grave de tuberculose pulmonaire hémoptoïque, consomptive. Sa mère également tuberculeuse et pleurétique, depuis quelques années n'avait plus de fièvre, et son frère se trouvait dans le même état, après avoir précedemment souffert d'un attaque violente de tuberculose. En considérant que la maladie à caractère familial, pouvait être heureusement influencée par les antigènes spéciaux qui s'étaient probablement formés chez les parents, et voyant vaine toute thérapeutique (la malade était sortie d'un hôpital spécialisé, avec un pronostic grave, et s'était rendue chez elle « pour mourir dans son lit »), l'auteur songea à utiliser le sérum de sang humain. Ayant prélevé d'abord le sang du frère, après la séparation du sérum, l'A. en prépara quelques petites ampoules, sans rien y ajouter pour la conservation. Avec ce premier sang il pratiqua deux injections. Les autres ont été faites avec le sang maternel. Le résultat thérapeutique fut un brillant succès. Une année entière sans hémoptysie; un petit chrachat sanguin après un an, et ensuite plus rien. Signes de guérison clinique.

On peut signaler aussi une rapide amélioration dans un cas de mal. de Pott, avec diminution spontanée de la douleur, tandis que le malade depuis un mois environ avait abandonné tout traitement, même sédatif. Citons aussi une petite fièvre tuberculeuse suivie d'une remarquable amélioration, d'une tuberculose pulmonaire traitée en vain par le pneumothorax; la disparition de toute manifestation clinique chez un garçon tuberculeux; la disparition de douleurs causées par des frottements pleurétiques chroniques et l'atténuation de l'examen objectif; une amélioration générale chez une jeune fille tuberculeuse; l'amélioration d'une chorio-rétinite centrale chez un sujet syphilitique et tuberculeux.

D'un remarquable interêt est le cas d'une malade de catarrhe apical avec des lésions pleurétiques limitées visibles à l'examen radiologique.

La maladie datait de plus de deux ans, mais auparavant la malade avait souffert de temps en temps de quelques attaques d'érythème noueux.

Or, trois jours après l'injection intradermique, se manifesta une éruption d'erythème noueux. Coïncidence? Corrélation? On ne sait pas; mais la chose est, cependant, digne d'être signalée.

En aucun cas, on n'eut à regretter des accidents, ni des coïncidences d'aggravations. Même les malades chez lesquels on ne put rien remarquer de spécial, ont déclaré aller mieux après ce traitement.

Une élevation de l'immunité générale chez les malades de tuberculose semble donc être possible grâce à ce système de cure tout à fait simple, facile et inoffensif.

*
* *

Comme on a déjà dit, l'essai fut étendu aux maladies cutanées. Vraiment surprenant est le résultat obtenu chez une ménagère, qui depuis quinze ans souffrait d'un eczéma diffus aux membres, spécialement grave aux mains. L'eczéma après sa première apparition, n'avait jamais disparu; mais il y avait eu des périodes de rémission de quelques jours pendant la saison d'hiver. Ces rémissions n'avaient jamais duré plus de cinq ou six jours, et on pouvait les obtenir à la condition que la malade s'abstienne de laver ou de tremper ses mains dans l'eau. En outre, même pendant ces brèves rémissions, ne disparaissaient que les rhagades, tandis que l'eczéma démeurait tel avec ses inconvénients.

En été, la maladie avait toujours été plus grave. Le 27 juillet 1932, fut pratiquée la première injection intradermique: le soir la malade allait déjà mieux, le prurit était plus faible, moins de douleurs. Le jour suivant, on constata l'éruption d'une grosse vésicule. Après sept jours les rhagades avaient disparu, après quinze jours toute trace d'eczéma avait aussi disparu. Depuis le 6 août jusqu'à ce jour, cette femme fait son ménage. La malade est heureuse puisque du commencement de sa maladie, elle n'avait jamais joui d'un tel bien-être. La peau de ses mains et de ses pieds est complètement normale. Ce résultat sort de l'ordinaire pour la rapidité avec laquelle les manifestations morbides ont disparu, justement pendant la saison qui dans le passé s'était démontrée particulièrement défavorable aux améliorations. Par contre, dans un cas d'eczéma des mains et des pieds localisé dans la partie flexueuse (paumes et plantes), on n'obtint aucun résultat.

Très intéressant au contraire, est le résultat obtenu dans le cas d'une femme de quarante-deux ans qui disait être atteinte depuis trois ans d'une affection cutanée générale grave que tous les médecins avaient diagnostiquée comme sclérodermie. Il suffisait de la regarder pour qu'aucun doute ne restât sur le diagnostic: visage à masque, rouge, bleuâtre, doigts durs, on entrevoyait des ulcérations sur son cou. L'étiologie était obscure, plusieurs années avant, son mari l'avait contaminée de syphilis. Les médecins cependant avaient jugé devoir attribuer l'intoxication à un traitement intensif d'énésol, qui à un certain moment avait même compromis ses yeux.

La malade vint se présenter chez moi, non pour faire traiter sa sclérodermie, pour laquelle elle avait désormais abandonné tout espoir, mais parce que depuis quelques jours elle souffrait d'une tuméfaction douloureuse, sous l'oreil droit, qui augmentait en produisant de la fièvre: il s'agissait d'une parotidite aigüe. La malade paraissait très déprimée

avec tachycardie et oppression. Elle déclarait souffrir d'aménorrhée depuis quatre mois. Depuis plus d'une année, elle n'avait eu que trois périodes menstruelles, toujours très pauvres.

Je commençai le traitement immunisant après avoir laissé passer la période aigüe. L'injection donna tout de suite la réaction cutanée, et vers le soir, une petite vésicule. Après deux jours commença une menstruation si abondante comme la malade ne s'en rappelait pas de pareille depuis des années. Le prurit et la pigmentation cutanée avaient diminué, mais puisque la maladie cutanée ne donnait pas des signes d'amélioration, l'auteur décida de pratiquer une deuxième injection à la distance de seulement quinze jours de la première. La réaction locale retarda de deux jours; mais elle se manifesta, ensuite, plus d'intensité que la première fois. Vingt-cinq jours après le commencement du traitement, la sclérodermie présentait une forte amélioration. Une bonne partie du corps, et les membres surtout, étaient déjà recouverts de peau hyperémique, mais non plus dure. La malade pouvait dormir sans prurit, chose qui ne lui arrivait que rarement auparavant. Ses menstruations lui revinrent régulièrement. Je rapporterai ultérieurement le résultat définitif.

Passant au système nerveux, ce qui frappe notre attention sont surtout les résultats obtenus dans l'épilepsie. Le cas n. 29 se rapporte à un jeune homme qui présentait tous les symptômes de cette grave maladie, et un esprit obtus. Il est important de remarquer comment une première intradermo-injection fut suivie par une réaction régulière, signée après sept jours par l'apparition d'un état épileptique impressionnant, c'est-à-dire 40 convulsions dans l'espace de 36 heures, dont plus précisement 26 en 24 heures. Le malade n'avait jamais présenté tel état avant l'injection de sérum: après cette violente secousse, on obtint une amélioration surprenante, qui continua pendant quatre ans jusqu'à maintenant.

Plusieurs autres cas d'épilepsie, ainsi traités en ont tiré de l'avantage. Pour l'asthme bronchiale, se basant sur les résultats obtenus l'auteur croit que la maladie dépend d'une quantité insuffisante d'anticorps présents dans l'organisme malade. Il croit donc que la guérison est possible en pratiquant une stimulation antigénique de la peau, éventuellement répétée seulement après le début de la période anaphylactique. En effet, si l'on répétait l'injection de sérum avant que l'organisme n'ait formé les anticorps, on produirait une aggravation du mal, parce qu'en injectant d'autres antigènes dans un organisme déjà pauvre en anticorps, on cause un déséquilibre nuisible. D'après notre conception, de vouloir nous tenir le plus près possible des conditions naturelles, on comprend combien il serait erroné et dangereux de vouloir administrer à un organisme déjà déficient en anticorps, tous les antigènes qu'une ordinaire injection de

sérum, soit sous-cutanée, soit intra-veineuse, peut contenir. On ne doit donc pas s'étonner des cas mortels survenus chez des asthmatiques, soumis à des traitements sériques. En effet, l'irruption rapide et massive des antigènes dans le sang, l'incapacité du sérum à les neutraliser, l'incapacité de la peau à l'absorber, sont vraisemblablement les facteurs de ces malheureux insuccès. Le choc mortel de tant de pauvres asthmatiques (Gillette en rapporte 28 cas, dont 16 morts par une seule injection de sérum) doit être interprété comme un rapide et malheureux essai fait par l'organisme pour se libérer du poison, qu'en bonne foi, le médecin lui avait introduit.

L'accident n'était pas à craindre pour une simple petite injection de 0,10 de cc. de sérum intracutanée. Le siège de la piqure, la manière, la quantité du liquide, tout était si près des conditions naturelles que la réaction n'était plus à craindre (1).

---

(1) Je dois, cependant, reconnaître que ce ne fut pas sans appréhension que je pratiquai chez un asthmatique la première injection intracutanée de sérum de cheval, au mois d'août 1926. Il s'agissait d'un cas d'un très grand intérêt: un jeune homme de 16 ans, dont la mère avait souffert, pendant la grossesse, de crises asthmatiques, jamais ressenties auparavant et qui ne reparurent plus après. Ce jeune homme qui n'avait jamais eu d'asthme fut soudainement pris par une crise' à l'aube du 5 avril 1925. En peu de jours, l'asthme devint quotidien, prenant le malade deux ou trois fois par jours, avec des crises plus ou moins longues, contre lesquelles il trouvait un peu de soulagement par l'adrénaline ou la morphine, selon les cas, les médecins, les circonstances.

Après quatre mois, toutes les ordonnances ayant été inutiles, le malade se rendit chez une « sorcière » des alentours qui affirma que le jeune homme aivait été ensorcelé, et qu'il fallait prendres diverses mesures parmi lesquelles celle d'emporter de la maison l'oreiller du lit sur lequel le malade dormait. L'oreiller incriminé fut tout de suite transporté chez un parent, et d'après la relation des intimes, l'*asthme disparut soudainement*. Le fait se produisait en automne 1925. Après six mois de bien-être l'asthme réapparaissait, intense, pénible, implacable, trois, quatre et jusqu'à six fois par jour. La première fois que je fus appelé d'urgence chez le malheureux, c'était au commencement du mois d'août 1926. Le traitement direct ne fut entrepris qu'une vingtaine de jours après, puisque le médecin de la famille avait pris ses vacances. Depuis la 15 août, l'asthme était devenu chronique; c'est à dire qu'il durait jour et nuit, sans relâche, mais, au contraire, avec des recrudescences. Au cours des conversations familières entre les parents du malade et le médecin, la mère avoua en pleurant l'affaire de l'oreiller, et manifesta son désespoir; elle s'était rendue plusieurs fois chez la même « sorcière » et n'avait obtenu aucun résultats des conseils donnés successivement par celle-ci. On envoya tout de suite chercher le fameux oreiller qui se trouvait chez un parent, et on put constater qu'il était composé en grande partie de crin de cheval.

Le jour suivant on put vérifier que dans la cour de la maison, stationnait le mulet d'un colporteur, bien que la maison se trouvât en ville. Ces choses arrivent souvent dans les habitations populaires, malgré les règlements et la surveillance hygiénique. La mère ayant été avertie que l'asthme pouvait dépendre de la présence du mulet, réussit à obtenir avec beaucoup de peine, de menaces et de querelles que l'animal fût éloigné. On fit un nettoyage complet du coin où reposait le mulet. Après d'abondants lavages, on recouvrit la terre avec de la chaux, mais tout fut inutile, puisqu'après trois jours l'asthme persistait encore, nullement modifiée, et toujours très grave. Le 28 août 1926, en application des conceptions que j'ai déjà exposées, je décidai enfin de pratiquer une injection intradermique de sérum de cheval à la dose d'un centimètre cube. On n'obtint aucune réaction locale. Comme on l'a déjà vu notre but n'était pas celui de désensibiliser le malade, mais de le rendre sensible, c'est-à-dire, de déterminer dans son tissu cutané un stimulus antigénique capable de provoquer la formation des anticorps. J'avais donc l'intention de ne pas pratiquer d'injection ultérieure de sérun, avant d'avoir observé les effets de la première. On constata ces effets exactement le septième jour, par une intense réaction d'urticaire.

L'asthme, qui depuis dix huit jours travaillait sans relâche le malheureux, disparut

CONCLUSIONS

Cette note préliminaire est nécessairement très brève. Elle ne servira donc qu'à donner une idée de ce nouveau système qui tend à utiliser les sérums dans des buts curatifs nouveaux. L'auteur désire signaler des cas, uniquement pour que ses assertions soient contrôlées.

Mais, se basant sur une grande expérience qu'il a acquise à ce propos, il se croit autorisé à pouvoir affirmer que par ce système, on peut juger les phénomènes immunitaires mieux que l'on ne le fait aujourd'hui, en précisant ainsi la conception de l'anaphylaxie: c'est un phénomène que l'on peut attribuer à une introduction excessive et antinaturelle d'antigènes dans l'organisme.

En outre, à la lumière des résultats obtenus, le phénomène d'Arthus, doit être considéré comme une réaction ayant son individualité propre, et non comme appartenant au groupe des phénomènes anaphylactiques.

L'auteur expose d'autres conclusions qu'il énumère.

L'asthme bronchial doit être considéré comme une maladie due à

---

comme par miracle, mais ce fut le début d'une fièvre qui suivit à peu près le cours d'une fièvre typhoïde légère, pendant 25 jours et que je pris pour une maladie de sérum.

Même pendant cette période, il n'y eut pas d'asthme. Le 28 septembre le malade apyrétique, paraissait transformé, sans asthme, moins émacié, réjoui par l'espoir que le nouveau traitement lui avait fait naître. En peu de jours, il se rétablissait, allait se promener, mangeait de bon appétit, en somme il paraissait guéri. Au contraire après dix-huit jours, le 15 octobre exactement, survenait un rhume, accompagné d'une toux sifflante. J'observais le phénomène avec le plus vif intérêt car je craignais une rechute d'asthme. En effet, la famille était convaincue du miraculeux pouvoir du rémède que j'avais administré, et dont je n'avais pas dit le nom. Moi, au contraire, malgré toutes mes théories je craignais de faire une deuxième injection ! A bien y penser, en connaissant les inconvénients, on ne pouvait pas m'en faire un tort. Pratiquer une deuxième injection de sérum chez un asthmatique qui en avait déjà subie une, tout simplement par voie cutanée, avec une réaction de 25 jours de fièvre ! J'avoue que je passai des jours de grande agitation et que je fus sur le point de ne pas la faire ! Mais, la conscience qui me venait du fait d'avoir étudié profondément le problème, me donna la certitude qu'une injection intracutanée à petite dose était une chose bien différente de l'introduction de la même petite dose par une autre voie (ou sous cutanée, ou intra-musculaire, ou intra-veineuse). Et ce fut ainsi que, le 28 octobre, j'osai injecter pour la deuxième fois un centimètre cube de sérum normal de cheval sous la peau de mon malade. La réaction immédiate qui en dériva ne dépassa pas le bras, qui en quelques heures seulement, se couvrit d'une urticaire fortment prurigineuse. Au début, il eût 38°,8 de fièvre, qui diminua en quatre jours jusqu'à la normale.

L'asthme s'améliora et se réduisit à un léger sifflement presque imperceptible, mais ne disparut pas tout à fait. De toutes façons, je me crus autorisé à croire qu'on pouvait bien soutenir l'opinion que l'asthme bronchiale dépend d'une insuffisance cutanée d'anticorps. Si l'on part du point de vue qui limite l'asthme bronchial à une maladie cutanée, le cas de mon malade se présentait avec un pronostic peu favorable, en ce sens que la peau ne paraissait pas trop excitable et en état d'insuffisance immunitaire fonctionnelle, puisqu'elle tentait d'éliminer rapidement l'antigène. Mais je me réserve de traiter plus amplement cette question lorsque j'aurai réuni les nombreuses observations que j'ai faites sur l'asthme bronchial, maladie dont j'ai traité dans ces dernières années quelques centaines de cas. Dans un seul cas, on n'a pas obtenu d'amélioration ; dans beaucoup, on arriva à la guérison.

une insuffisance immunitaire; on doit donc la traiter non par la désensibilisation, mais par une sensibilisation, qu'on obtient pratiquement par l'augmentation de l'immunité. D'autre maladies, spécialement cutanées et nerveuses, peuvent aussi s'interpréter par l'existence d'une insuffisance immunitaire. Les maladies chroniques, la tuberculose y comprise, peuvent être arrêtées par l'élévation de l'immunité, obtenue en utilisant la « sérothérapie intra-cutanée anaphylactisante ».

La technique est tout à fait simple: les doses varient entre 0,10 cc. et 1 cc.; il n'y a pas à craindre de gros inconvénients, à la condition d'employer une dose minime au début du traitement, chez les asthmatiques, chez les malades atteints de paludisme et dans tous les cas allergiques, en général.

MORELLI E. – **Relations immunologiques entre les lipoides de différents organes et les lipoides neoplasiques.**

Les premières études sur les propriétés antigéniques spéciales des lipoïdes des tumeurs malignes ont été faites tout récemment. En effet, cette question fur étudiée, la première fois en 1919, presqu'en même temps en Allemagne par Witebsky et en Pologne par Hirschfeld, Halber et Laskoski. De nombreux travaux ont suivi, et quelques uns d'entre-eux ont une importance considérable; mais le sujet reste quand même l'un des problèmes les plus complexes de l'immunologie.

Je ne m'arrêterai pas ici sur les détails des résultats de ces études; je ne ferai qu'une exposition schématique des arguments qui ont un plus strict rapport avec les expériences dont je me propose de rapporter ici les premiers résultats. J'ai particulièrement étudié les deux propriétés des lipoïdes néoplasiques: c'est-à-dire, leur activité et leur spécificité antigénique.

Bien que tout le monde reconnaisse que les lipoïdes néoplasiques sont particulièrement « disponibles », de sorte que l'injection du tissu tumoral donne lieu à une formation rapide d'anticorps anti-lipoïdiques, il semble qu'on ne puisse parler de lipoïdes doués d'une empreinte antigénique bien définie que dans quelques cas, la question étant compliquée par l'affinité plus ou moins intime que ces substances présentent avec celles qui composent les organes et les tissus normaux. On est frappés surtout par la grande variété de résultats que l'on obtient après l'injection des suspensions tumorales. Parfois, elles donnent lieu à la formation d'anticorps spécifiques pour les tumeurs en général, ou limitativement pour les tumeurs d'une localisation déterminée; d'autres fois, au contraire, les sérums obtenus ont une empreinte marquée d'espèce ou de

groupe; c'est-à-dire qu'ils réagissent non seulement avec les extraits du tissu néo-formé, mais aussi, et souvent avec la même intensité, avec les mêmes extraits des organes normaux appartenant à la même espèce, ou au même groupe de la tumeur employée pour le traitement.

La différence des résultats dépend, semble-t-il, en partie d'une diversité dans la structure biochimique des tumeurs par rapport à leur nature et à leurs localisations différentes; je ne crois pas cependant que l'on puisse absolument exclure que, dans toutes les tumeurs les lipoïdes subissent une altération similaire, celle ci ne pouvant constituer des caractères immunologiques décelables qu'à une période détérminée du développement. Pour cette raison, j'ai cru utile d'entreprendre l'étude de la nature de l'affinité immunologique entre le tissu néoplasique et les organes normaux, en employant toujours des tumeurs d'une nature, d'une localisation et d'un développement bien détérminés.

Ces conditions sont particulièrement faciles à obtenir dans les tumeurs des animaux, et c'est précisément à ce matériel que j'ai eu recours dans cette première série d'expériences.

J'ai utilisé jusqu'à présent, presque exclusivement, un sarcome de rat. Il a l'avantage d'atteindre des proportions considérables, de nécroser lentement et, en plus, ainsi que Witebsky l'avait déjà démontré, ses constituants lipoïdes présentent une disponibilité particulière. En outre, une étude précédente sur les propriétés immunologiques du sarcome de l'homme, m'avait montré que les lipoïdes des tumeurs mésenchymales présentaient *in vitro* une empreinte antigénique caractéristique bien évidénte pour le tissu néoplasique, empreinte pas toujours facile à décéler *in vivo*. Il était, pour moi, particulièrement intéressant de vérifier si les tumeurs mésenchymales d'autres espèces animales se comportaient d'une manière analogue. Les recherches dont je donne ici les premiers résultats ont pour but de constater:

1) la nature des rapports entre les propriétés immunologiques des lipoïdes contenus dans le sarcome du rat et celles qui font partie de la constitution des diverses organes normaux;

2) la nature des affinités qui existent entre les lipoïdes du tissu sarcomateux et celles d'autres tissus à croissance rapide, comme le tissu carcinomateux et le tissu embrionaire;

3) la possibilité de mettre en évidence la présence d'un antigène néoplasique spécifique dans cette espèce de tumeurs et, dans ce cas, sa constance, ou le moment optimum du développement de l'affinité antigénique.

Dans ce but, l'on injecta quelques lapins avec des suspensions à concentration croissante (à partir d'une concentration du 7% jusqu'à

une concentration du 12%) d'un sarcome de dix jours, à développement rapide, absolument exempt de portions nécrotiques.

Les sérums obtenus furent essayés avec des dilutions croissantes d'extraits alcooliques:

a) de sarcome de rat à une période identique de développement;
b) de sarcome de rat fortement nécrosé;
c) de rein de rat normal;
d) de rate de rat normal.

En utilisant la déviation du complément comme témoin de la réaction entre antigènes et anticorps, je pus constater que cette déviation existait non seulement en mettant en présence les antisérums ci-dessus et les extraits alcooliques du sarcome, mais en le essayant aussi avec les extraits de certains organes (rate, rein) de rat normal. Au contraire, on obtenait une complète hémolyse en présence des extraits d'autres organes, par exemple de foie.

Cette observation qui cadre avec de précédentes études de Witebsky, indiquait d'une étroite affinité entre les lipoïdes néoplasiques et les lipoïdes de certaines organes normaux. Ces rapprochements ne s'expliquent pourtant nullement par des analogies d'ordre histologique entre ces derniers tissus et la tumeur. En effet, en essayant l'activité d'une quantité fixe d'antisérum avec des diluitions croissantes d'antigènes, nous observons qu'en présence des extraits, on obtient la déviation du compléinent jusqu'à des diluitions trés élevées; en présénce des extraits de rein, jusqu'à des dilutions sensiblement inférieures, et inférieures encore vis-à-vis des extraits de la rate, organe qui est notablement plus riche en cellules mésenchymales et pourtant histologiquement plus proche du tissu sarcometeux.

L'aptitude de réaction de ces sérums n'est d'ailleurs pas limitée exactement aux tumeurs et aux organes de l'espèce rat, mais elle s'étend, quoique en plus petite proportion, aux extraits des tumeurs et même à ceux de certains tissus normaux de l'espèce humaine. Ce serait une démonstration que dans le sarcome du rat il existe une portion antigénique commune à d'autres espèces; celle-ci présenterait donc une disposition analogue à celle des antigènes hétérophiles.

Les épreuves de l'absorption ont démontré cependant que malgré cette affinité pour certains organes normaux, il est possible de reconnaître dans les antigènes néoplasique des caractéristiques immunologiques particulières:

a) avec des extraits de rein;
b) avec des extraits de rate;

c) avec des extraits de foie;

d) avec des extraits de sarcome de rat;

e) avec des extraits de carcinome de l'homme.

Les résultats ont été les suivants:

1) Le sérum adsorbé avec des extraits alcooliques de rein, ou de rate normaux se comportent comme des sérums absolument spécifiques pour les néoplasmes; c'est-à-dire qu'il réagissent uniquement avec des extraits du sarcome du rat et du carcinome de l'homme. Au contraire toute activité collatérale vis-à-vis des organes normaux a disparu.

2) Les sérums adsorbés avec des extraits de foie de rat restent inchangés.

3) Les sérums adsorbés avec des extraits de sarcome de rat perdent toute activité.

4) Les sérums absorbés avec des extraits de carcinome de l'homme perdent la faculté de réagir sur les extraits d'origine humaine et ils la gardent inaltérée vis-à-vis des extraits des organes dérivant du rat.

De ce que je viens d'exposer, on peut conclure que la structure antigénique des lipoïdes contenus dans cette espèce de tumeurs, est très complexe et comporte plusieurs fractions, ou fonctions antigèniques partielles. Nous en pouvons dis inguer au moins trois: une portion hétérophile, qui se trouve même dans quelques organes de l'espèce humaine; une autre, commune à la tumeur et a divers organes de l'espèce rat, et enfin une portion néoplasique spécifique qui peut être évidente même pour les tumeurs de l'homme, ou, au moins, dans certains cas.

Cette portion néoplasique est celle qui distingue les lipoïdes du sarcome de ceux des organes normaux, en leur donnant une empreinte antigénique particulière, qui est la seule capable de saturer tous les anticorps de l'antisérum correspondant.

Est-elle spécifique des tumeurs malignes, ou pouvons-nous la rencontrer aussi dans d'autres tissus à croissance rapide?

Quelques recherches entreprises par Hirschfeld pendant ces derniers mois, établiraient une certaine ressemblance entre le tissu néoplasique et le tissu embrionaire, même à ce nouveau point de vue. D'après mes recherches, on peut conclure, par contre, que les sérums antisarcomateux absorbés avec des extrait de pulpe embrionaire de rat (il faut pourtant tenir compte qu'il s'agissait des embrjons à un état très avancé de develópement), n'ont montré aucune modification des anti-corps antinéoplasiques et qu'ils se sont comportés vis-à-vis des extraits tant de carcinome, que de sarcome, d'une façon absolument identique à celle qu'on a pu constater après l'absorption par des organes de rat adulte.

Cela plaiderait donc pour une spécificité absolue de la structure antigénique des tumeurs.

Dans les épreuves d'absorption, aussi bien que dans celle de déviation du complément, l'extrait alcoolique de sarcome à l'état initial, et celui de sarcome nécrosé, ont montré *in vitro* une manière de se comporter à peu près identique. Par contre, les propriétés immunisantes de la tumeur nécrosée sont moins évidentes *in vivo*, et moins régulièrement spécifiques.

D'après ces recherches préliminaires, exécutés pour le moment avec un nombre extrêmement limité d'antigènes, je crois qu'on peut conclure que les lipoïdes des tumeurs ont, au moins dans une période déterminée de leur développement, des caractéristiques immunologiques particulières, que, jusqu'à présent, on n'a pas pu rencontrer en déhors du tissu néoplasique. Ces caractéristiques semblent particulièrement évidentes dans les tumeurs qui n'ont pas encore subi de processus nécrotiques.

Institut de Pathologie Générale Université R. de Florence.

FAVILLI G. – **Recherches sur le mécanisme de l'immunité locale.**

Les résultats de recherches récentes (Duran Reynals, Mc Clean, Favilli) permettent désormais de considérer l'action de l'extrait testiculaire comme liée à la présence d'une substance « perméabilisatrice » des membranes cellulaires et des tissus. On sait que l'extrait testiculaire favorise considérablement dans ces derniers l'évolution des infections par les bactéries et les virus filtrants. Puisqu'il semble que cette action de l'extrait testiculaire favorisant les infections a un rapport avec l'action « perméabilisante » de l'extrait même, nous nous sommes proposé d'établir quel est vis-à-vis de matières inertes, telles que l'encre de Chine, l'effet produit sur la perméabilité des tissus par les agents dits « antivirus de Besredka » qui s'opposent très nettement à certaines infections, en particulier à celles des tissus cutanés par le staphylocoque (Besredka). C'est pourquoi, après avoir contrôlé au cours de plusieurs essais préliminaires le pouvoir inhibiteur d'un antivirus staphylococcique vis-à-vis de l'infection à staphylocoque dans le derme du lapin (pouvoir qui s'est toujours montré considérable), on a pratiqué de nombreuses expériences, pour étudier la façon dont se manifeste le pouvoir perméabilisateur de l'extrait testiculaire dans des zones préalablement traitées par l'antivirus. On a employé de l'extrait testiculaire aqueux, frais, provenant du veau ou du rat, préparé suivant le procédé habituel déjà indiqué dans nos travaux précé-

dents (1). Cet extrait était injecté dans le derme du lapin en quantités variables soit avec de l'antivirus antistaphylococcique, soit seul dans des zones cutanées préalablement traitées par des injections de cette dernière substance. Pour contrôler la diffusion dans les tissus on injecta l'extrait testiculaire avec de l'encre de Chine. La lecture des résultats était faite 24 heures après l'injection. Les nombreuses expériences exécutées ont permis d'établir:

1) que l'extrait testiculaire injecté dans des zones précédemment traitées par des injections d'antivirus diffuse très peu dans le derme en comparaison des zones de contrôle;

2) que la diffusion opérée par l'extrait testiculaire dilué jusqu'à 1:100 est presque totalement empêchée dans les zones préalablement traitées par l'antivirus, tandis que l'extrait testiculaire garde, à cette même diluition, presque tout son pouvoir de diffusion.

3) que l'injection simultanée d'extrait testiculaire et antivirus empêche considérablement la diffusion de l'encre de Chine injectée après 24 heures, dans la même zone; par contre, il y a une diffusion très marquée dans les zones préalablement injectées avec l'extrait testiculaire seul.

On sait que même le bouillon ordinaire est doué de propriétés empêchantes vis-à-vis des infections, analogues à celles de l'antivirus; aussi a-t-on fait pour le bouillon les mêmes expériences que pour l'antivirus: les résultats ont été identiques. Ils permettent d'affirmer qu'il existe un antagonisme entre l'action exercée sur les tissus par l'extrait testiculaire et l'action exercée par le bouillon ou par l'antivirus. L'action du premier peut être considérée, à la suite de très nombreuses observations, comme « perméabilisante »; les seconds, au contraire, déterminent un état particulier qui empêche l'activité du facteur perméabilisateur contenu dans l'extrait même. Si l'on considère ces faits par rapport au pouvoir d'inhibition qu'ont vis-à-vis de certaines infections l'antivirus et le bouillon, c'est-à-dire le pouvoir de créer un état d'immunité locale (spécifique d'après Besredka, aspécifique d'après la plupart des chercheurs) on peut donner une interprétation bien exacte du mécanisme encore obscur de cette immunité.

Nous avons, en effet, d'une part l'extrait testiculaire, perméabilisateur des tissus, qui accroît les lésions provoquées par des agents infectieux filtrants et bactériens; d'autre part, l'antivirus et même le bouillon ordinaire qui s'opposent au pouvoir perméabilisateur de l'extrait testiculaire et qui déterminent dans les tissus (ou au moins dans la peau) un état d'immunité locale. Si les expériences conduites jusqu'à présent

(1) *Favilli G.*, Lo Sperimentale, 1931, fasc. V-VI, p. 561; 1932, fasc. III-IV, p. 303 Journ. of Exp. Med., 1931, 54, p. 197.

permettent d'affirmer que l'action de l'extrait testiculaire, en ce qui concerne les infections par agents infectieux, est due à une augmentation de perméabilité des tissus, on peut également affirmer que le pouvoir de l'antivirus d'inhiber les lésions dues au staphylocoque, etc., réside dans la proprieté de l'antivirus de diminuer la perméabilité cellulaire et des tissus. On pourra donc affirmer en général qu'à une augmentation de perméabilité des tissus correspond une plus grande réceptivité de ces derniers aux infections; à une perméabilité diminuée correspond un état réfractaire plus ou moins net.

Les résultats de nos expériences nous amènent donc à considérer l'immunité locale comme la manifestation d'une condition particulière de perméabilité des tissus, c'est-à-dire, comme un phénomène aspécifique et tout à fait différent, au moins dans un premier stade, des phénomènes typiques d'immunité.

Il se peut, toutefois, qu'à cette première phase où l'immunité locale se montre comme un phénomène aspécifique et lié aux modifications de perméabilité des tissus, succède une autre phase dans laquelle ces facteurs défensifs soient associées avec des facteurs spécifiques montrant un état d'immunité humorale et cellulaire.

Institut de Pathologie Générale. Université R. de Florence.

Direttore responsabile: Dr. Prof. A. Zironi.